



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

# **RESPON PERTUMBUHAN TANAMAN KINA (CINCHONA SUCCIRUBRA PAVON) DENGAN PEMBERIAN NAA DAN KINETIN SECARA IN VITRO**

## **SKRIPSI**



**GEFRI INDRA HUTABARAT  
1010212053**

**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG  
2015**

**RESPON PERTUMBUHAN TANAMAN KINA (*Cinchona  
succirubra* Pavon) DENGAN PEMBERIAN NAA DAN KINETIN  
SECARA *IN VITRO***

**OLEH**

**GEFRI INDRA HUTABARAT  
10 10 212 053**

**SKRIPSI**

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Pertanian**

**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG  
2015**



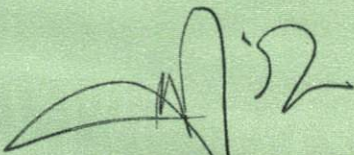
**RESPON PERTUMBUHAN TANAMAN KINA (*Cinchona  
succirubra* Pavon) DENGAN PEMBERIAN NAA DAN KINETIN  
SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

**OLEH**  
**GEFRI INDRA HUTABARAT**  
**10 10 212 053**

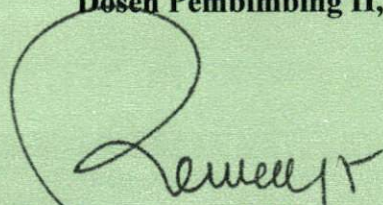
**MENYETUJUI :**

**Dosen Pembimbing I,**



**Prof. Dr. Ir. Warnita, MP**  
**NIP. 196401011989112001**

**Dosen Pembimbing II,**



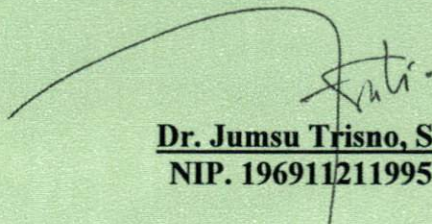
**Prof. Dr. Ir. Reni Mayerni, MP**  
**NIP. 196605111990032001**

**Dekan Faklultas Pertanian**  
**Universitas Andalas,**



**Prof. Ir. H. Ardi, M.Sc**  
**NIP. 195312161980031004**

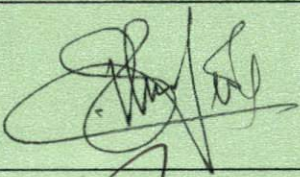
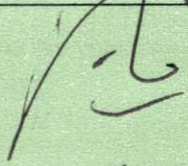
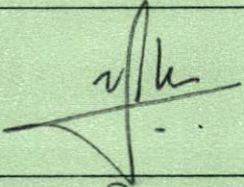
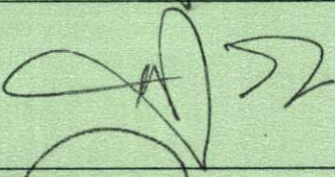
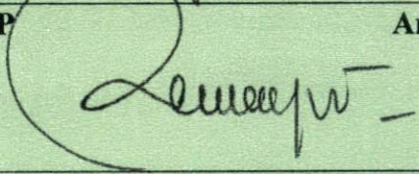
**Ketua Program Studi Agroekoteknologi**  
**Fakultas Pertanian**  
**Universitas Andalas,**



**Dr. Jumsu Trisno, SP., M.Si**  
**NIP. 196911211995121001**



Skripsi ini telah diuji dan dipertahankan di depan Sidang Panitia Ujian Sarjana  
Fakultas Pertanian Universitas Andalas, pada tanggal 29 Januari 2015.

No.	NAMA	TANDA TANGAN	JABATAN
1.	Dr. Ir. Istino Ferita, MS		Ketua
2.	Armansyah, SP., MP		Sekretaris
3.	Dr. Yusniwati, SP., MP		Anggota
4.	Prof. Dr. Ir. Warnita, MP		Anggota
5.	Prof. Dr. Ir. Reni Mayerni, MP		Anggota





*"Iman adalah dasar dari segala sesuatu yang kita harapkan dan bukti dari segala sesuatu yang tidak kita lihat (Ibrani 11 : 1)".*

*"Akuilah Dia dalam segala lakumu, maka Ia akan meluruskan jalanmu (Amsal 3 : 6)".*

*"Beserulah kepada-Ku, maka Aku akan menjawab engkau dan akan memberitahukan kepadamu hal-hal yang besar dan yang tidak terpahami, yakni hal-hal yang tidak kau ketahui (Yeremia 33 : 3)".*

*"Bila ia berseru kepada-Ku, Aku akan menjawab, Aku akan menyertai dia dalam kesesakan, Aku akan meluputkannya dan memuliakannya (Mazmur 91 : 15)".*

Terima Kasih Tuhan karena Engkau telah menjadi Bapa dalam kehidupanku, Engkau telah menjadi pelita bagi kakiku dan terang bagi jalanku, Engkau telah menjadikanku garam dan terang dunia bagi kehidupanku, dan Engkau telah memberikan kekuatan, kesehatan, panjang umur, harapan, dan selalu menuntun jalanku sehingga aku selalu berjalan di jalan yang benar sampai sekarang ini. Firman-Mu adalah santapan rohani yang membuatku selalu hidup dan berdiri di dunia ini. Aku percaya Firman-Mu Tuhan karena Firman-Mu yang menguatkan ku melewati semua ini. Aku percaya Engkau selalu ada untukku dimanapun dan tidak akan pernah meninggalkanku sampai kapanpun. *Thank You GOD.*

Untuk kedua orang tuaku, Bapak dan Mamaku yang paling kusayangi yang telah mengajarku banyak hal dan telah memberikan kasih sayang yang teramat besar yang tidak mungkin bisa aku balas dengan apapun. Bapak dan Mamaku tersayang, terima kasih kuucapkan dari lubuk hatiku yang paling dalam untuk semua pengorbanan, doa, nasihat, dukungan, dan motivasi selama ini. Pa Ma, aku beruntung dan senang menjadi anakmu karena Tuhan telah menciptakan dua orang yang hebat dan kuat untuk menjadi pemimpin bagiku. Pa Ma, kalian adalah orang yang paling mengerti keadaanku baik dalam suka dan duka. Pa Ma, aku tahu kalian tidak pernah lelah dan berhenti untuk mendoakan kami anak-anakmu supaya kami dapat menjadi orang yang berguna di masa depan. Pa Ma, semoga karyaku ini bisa membuat kalian sedikit tersenyum dan menghapus lelah kalian selama ini. Tetap kuat dan sehat-sehat ya Pa Ma sehingga aku dapat membanggakan kalian di masa yang akan datang. Aku akan selalu mendoakan kalian supaya Bapak dan Mama selalu diberikan kesehatan, panjang umur, dan semua yang baik oleh Tuhan Yang Maha Esa. Semoga Tuhan selalu memberkati kalian, Pa Ma. *Amin.*

Untuk ketiga saudara perempuanku adek Zuisty Sonia Hutabarat, Syntia Angelina Hutabarat, dan Kiara Lesmitriana Hutabarat. Terima kasih dek karena sudah selalu mendoakan, membantu, dan menyemangati abang selama ini. Abang beruntung dan senang karena Tuhan telah memilih kalian dek untuk menemani abang baik dalam keadaan suka dan duka. Kalian adalah orang-orang yang paling mengerti keadaan abang dan keluarga. Kalian adalah orang-orang yang membuat abang selalu tersenyum. Abang akan selalu mendoakan kalian bertiga agar selalu sehat-sehat dan panjang umur sehingga abang dapat melihat kalian bahagia dan tersenyum di waktu yang akan datang. Abang juga berdoa agar kalian dapat memenangkan cita-cita kalian dan dapat menjadi orang yang sukses. Semoga Tuhan selalu memberkati kalian adek-adekku. *Amin.*

Untuk keluarga besar dari bapak dan mama yang juga turut selalu mendoakanku selama masa perkuliahanku. Buat Amangboru dan Bou-bouku, Bapaktua dan Maktua, Uda dan Nanguda, Tulang dan Nantulang, abang dan kakak yang selalu bertanya: "gimana kuliahnya gef? Kapan wisuda gef?", sehingga pertanyaan itu selalu membuat aku semangat sehingga aku dapat menyelesaikan perkuliahanku seperti sekarang ini. Terima kasih buat dukungan selama ini. Semoga Tuhan selalu memberkati keluarga besar kita. *Amin.*



Untuk teman satu kamarku, Pahala Junedi Pandapotan, S.IP terima kasih buat hari-hari yang telah kita lalui bersama baik senang maupun susah. Terima kasih buat kebersamaan dan perhatianmu selama ini. Terima kasih juga untuk pelajaran, semangat, dan doamu sehingga aku bisa seperti ini. Pal, satu hal yang kutahu darimu bahwa "Kau adalah orang yang baik". Aku berharap teruslah kau menjadi orang yang baik, baik kepada orang tua dan orang-orang disampingmu. Aku akan selalu mendoakanmu, semoga semua yang baik diberikan oleh Tuhan Yang Maha Esa. Semoga Tuhan selalu memberkatimu, Pal. Amin.

Untuk keluarga besar Kultur Jaringan Fak, Pertanian Unand, terima kasih buat Ibu Aisyah yang selalu memberikan ilmu, semangat, dukungan, dan waktu baik selama penelitian maupun perkuliahanku. Terima kasih juga buat Erviana Eka Pratiwi, SP, Kak Endah Ika Wartini, SP, Kak Desi Handayani Lubis, SP, Kak Dahlia Sari, SP, Kak Tiara Yulianti, SP, Kak Syelvya Ayuni, SP, Kak Septiana Putri, SP, Niky Oktaviani, SP, Agus Indra, SP, Kak Yet, Kak Lara, Kak Amel, Bang Ari, Bang Chandra, dan Setri terima kasih atas bantuan dan dukungan yang telah berikan. Semoga Tuhan selalu memberkati kalian semua. Amin.

Untuk teman-teman seperjuangan selama penelitianku, Lionel Rubby Ginting, SP, A. Hafiz Nasution, SP, Beby Amalia, Rosa Noviana Barimbing, Wenni Purnama Siregar, Elsa Purnama Sari, Idona Valentina Siregar, Lusi Aprianti Siregar, Rida Sitompul, Lestina Pasaribu, Laila Nurshopia, dan Wiwin Susiani Ginting, SP terima kasih atas bantuan, motivasi, informasi, dan waktu yang telah kalian berikan kepadaku. Semoga Tuhan selalu memberkati kalian semua. Amin.

Untuk teman-teman seperjuangan dari asrama sampai ngekos, Stevanus Silaen, SP, Anggiat Hutagalung, S.Si, Andreas Juanto Sinaga, SH, Erwin Simangunsong, S.Pt, Abram Mena Hulu, SP, Steven Hutabarat, Dede F Manalu, Vietro Sitanggang, Junedi Tarigan, Julinando Pandiangan, Marlan F Simatupang, Jocky Rajaguguk, Ari Kusmanto, Sardi Sihombing, David Sipayung, Muhammad Yusuf, S.Tp, dan Jazmi Luthfi terima kasih atas kebersamaan dan hari-harinya selama ini. Terima kasih juga untuk segala bantuan yang telah kalian semua berikan. Semoga Tuhan selalu memberkati kalian semua. Amin.

Untuk keluarga besar Mahasiswa Kristen Universitas Andalas (MKUA) yang tidak dapat disebutkan satu persatu, yang sedang maupun yang telah menyelesaikan perkuliahannya, terima kasih atas kebersamaan, kegiatan rohani, dan bantuan yang telah diberikan selama ini. Semoga sukses buat kita semua. Semoga Tuhan selalu memberkati kalian semua. Amin.

Untuk keluarga besar Agroekoteknologi'10 Universitas Andalas, semoga kalian semua diberikan yang terbaik oleh Tuhan Yang Maha Esa. Terima kasih atas semua doa, bantuan, kegiatan, dan kebersamaan selama ini mulai dari awal sampai akhirnya dapat menyelesaikan semuanya dengan baik. Untuk abang dan kakak senior Agroekoteknologi terima kasih atas segala nasihat, arahan, dan bantuan yang telah kalian berikan. Untuk adek-adek Agroekoteknologi tetap semangat dan terus berjuang. Kalian pasti bisa melewati semuanya. Semoga Tuhan selalu memberkati kalian semua. Amin.

Satu hal yang perlu diketahui bahwa kita dilahirkan untuk terus berjuang dan menjadi orang yang baik. Ketika Semangat dan Usaha selalu ada dan Doa selalu menyertai, maka kita harus percaya bahwa rintangan seberat apapun pasti dapat kita lalui. Semoga sukses buat kita semua. Amin.

(TUHAN BESERTA KITA)



## BIODATA

Penulis dilahirkan di Medan, Sumatera Utara pada tanggal 07 Februari 1991 sebagai anak pertama dari empat bersaudara. Dilahirkan dari pasangan Bapak Robert Hutabarat dan Ibu Esmida Simanjuntak, S.Pd. Pendidikan Taman Kanak-kanak (TK) ditempuh di TK Dr. Wahidin Sudirohusodo, Pasar V Marelan, Medan (1996-1997). Pendidikan Sekolah Dasar (SD) ditempuh di SD Wahidin Sudirohusodo, Pasar V Marelan, Medan (1997-2001) dan dilanjutkan di SD Negeri 067253 Medan (2001-2003). Sekolah Menengah Pertama (SMP) ditempuh di SMP Negeri 11 Medan (2003-2006). Sekolah Menengah Atas (SMA) ditempuh di SMA Negeri 19 Medan (2006-2009). Diploma (D1) ditempuh di Politeknik Negeri Medan (2009-2010). Pada tahun 2010, penulis mengikuti Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) dan diterima di Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas, Padang.

Selama menempuh pendidikan dasar, penulis pernah menjabat dalam kepengurusan OSIS bidang Kerohanian. Selama menjadi mahasiswa Fakultas Pertanian Universitas Andalas, penulis pernah berperan sebagai asisten praktikum pada mata kuliah Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan, Teknologi Produksi Tanaman Hortikultura I, Ekologi Tanah dan Tanaman, Teknologi Produksi Tanaman Hortikultura II, dan Kultur Jaringan Tumbuhan. Selain itu, penulis juga pernah ikut serta dalam penulisan proposal Program Kreativitas Mahasiswa bidang Penelitian (PKM-P) yang diselenggarakan oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi (DIKTI) pada tahun 2012.

Padang, Maret 2015

G. I. H



## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas berkat, rahmat, dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul **“Respon Pertumbuhan Tanaman Kina (*Cinchona succirubra* Pavon) dengan Pemberian NAA dan Kinetin Secara *In Vitro*”** dengan baik.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu **Prof. Dr. Ir. Warnita, MP** selaku pembimbing I dan Ibu **Prof. Dr. Ir. Reni Mayerni, MP** selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, arahan, nasihat, motivasi, dan saran-saran yang sangat berharga kepada penulis dalam penulisan skripsi ini. Terima kasih juga penulis ucapkan kepada Bapak **Armansyah, SP., MP, Prof. Dr. Ir. Irfan Suliansyah, MS, Ir. H. Yusrizal M. Zen, MS** dan Ibu **Dr. Ir. Istino Ferita, MS, Dr. Yusniwati, SP., MP, Dr. Ir. Irawati M. Rur, Sc** yang telah banyak memberikan arahan dan saran-saran untuk penulisan skripsi ini.

Selanjutnya, penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Dekan Fakultas Pertanian dan Ketua/Sekretaris Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Andalas beserta staf dan pengajar yang telah turut memberikan petunjuk dan bantuan dalam pelaksanaan penelitian.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan adanya kritik dan saran yang konstruktif dari para pembaca, agar penulisan skripsi selanjutnya menjadi lebih baik lagi. Untuk itu, penulis mengucapkan terima kasih.

Padang, Maret 2015

G. I. H



# DAFTAR ISI

	Halaman
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xiii</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>xiv</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xv</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang .....	1
B. Perumusan Masalah .....	5
C. Tujuan Penelitian .....	5
D. Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>6</b>
A. Tanaman Kina .....	6
B. Kultur Jaringan .....	8
C. Media Kultur .....	9
D. Eksplan .....	10
E. Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) .....	11
<b>BAB III BAHAN DAN METODE .....</b>	<b>14</b>
A. Tempat dan Waktu .....	14
B. Bahan dan Alat .....	14
C. Rancangan Penelitian .....	15
D. Pelaksanaan Penelitian .....	16
1. Sterilisasi Alat dan Bahan .....	16
2. Pembuatan Larutan Stok Zat Pengatur Tumbuh NAA dan Kinetin .....	16
3. Pembuatan Media .....	17
4. Pemberian Perlakuan .....	18
5. Penanaman Eksplan .....	18
6. Pemeliharaan .....	19
E. Pengamatan .....	19
1. Persentase Eksplan Bertunas dan Berakar (%) .....	19
2. Persentase Eksplan Berkalus (%) .....	20
3. Jumlah Tunas per Eksplan (buah) .....	20
4. Tinggi Tunas (cm) .....	20
5. Jumlah Daun per Eksplan (buah) .....	20
6. Jumlah Akar per Eksplan (buah) .....	20
7. Panjang Akar Terpanjang (cm) .....	21
8. Bobot Segar Bertunas dan Berakar (g) .....	21
9. Kadar Klorofil .....	21



10. Tekstur Kalus .....	22
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>23</b>
1. Kadar Klorofil .....	24
2. Persentase Eksplan Bertunas dan Berakar (%) .....	26
3. Persentase Eksplan Berkalus (%) .....	28
4. Jumlah Tunas per Eksplan (buah) .....	30
5. Tinggi Tunas (cm) .....	32
6. Jumlah Daun per Eksplan (buah) .....	33
7. Jumlah Akar per Eksplan (buah) .....	35
8. Panjang Akar Terpanjang (cm) .....	37
9. Bobot Segar Eksplan Bertunas dan Berakar (gr).....	39
10. Tekstur Kalus .....	41
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>43</b>
A. Kesimpulan .....	43
B. Saran .....	43
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>44</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>49</b>



## DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Kadar klorofil a dengan pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin pada umur 12 MST (transformasi $\sqrt{(x+1)}$ )	24
2. Kadar klorofil b dengan pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin pada umur 12 MST (transformasi $\sqrt{(x+1)}$ )	25
3. Kadar klorofil total dengan pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin pada umur 12 MST (transformasi $\sqrt{(x+1)}$ )	25
4. Persentase eksplan bertunas dan berakar dengan pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin pada umur 12 MST (transformasi Arc.Sin $\sqrt{x}$ )	27
5. Persentase eksplan berkalus dengan pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin pada umur 12 MST (transformasi Arc.Sin $\sqrt{x}$ )	29
6. Jumlah tunas dengan pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin pada umur 12 MST (transformasi $\sqrt{(x+1)}$ )	31
7. Tinggi tunas dengan pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin pada umur 12 MST (transformasi $\sqrt{(x+1)}$ )	32
8. Jumlah daun dengan pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin pada umur 12 MST (transformasi $\sqrt{(x+1)}$ )	34
9. Jumlah akar dengan pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin pada umur 12 MST (transformasi $\sqrt{(x+1)}$ )	36
10. Panjang akar terpanjang dengan pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin pada umur 12 MST (transformasi $\sqrt{(x+1)}$ )	38
11. Bobot segar eksplan bertunas dan berakar dengan pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin pada umur 12 MST (transformasi $\sqrt{(x+1)}$ )	40
12. Tekstur kalus dengan pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin pada umur 12 MST	41



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. <i>Shootlet</i> sumber eksplan <i>C. succirubra</i> yang digunakan dalam penelitian ini	14
2. Pertumbuhan eksplan <i>C. succirubra</i> pada umur 3 MST pada penelitian ini: (A) Eksplan bertunas saja, (B) Eksplan berkalus bertunas, (C) Eksplan berkalus berakar, (D) Eksplan bertunas berakar	23
3. Pertumbuhan eksplan <i>C. succirubra</i> yang mengalami pencoklatan dan <i>browning</i> pada umur 3 MST	24
4. Pertumbuhan tunas dan akar <i>C. succirubra</i> umur 12 MST	28
5. Akar yang terbentuk pada kalus <i>C. succirubra</i> umur 12 MST	37
6. Kalus yang terbentuk pada <i>shootlet</i> <i>C. succirubra</i> umur 12 MST	42



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Jadwal Kegiatan Penelitian dari Bulan Juni 2014 sampai dengan Oktober 2014	49
2. Denah Penempatan Botol Kultur di Laboratorium Berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial	50
3. Komposisi Nutrisi Media Dasar Murashige dan Skoog (MS)	51
4. Pembuatan Larutan Stok pada Media Dasar MS	52
5. Perhitungan Kebutuhan Zat Pengatur Tumbuh NAA dan Kinetin	56
6. Tabel Sidik Ragam Beberapa Pengamatan	59
7. Dokumentasi Hasil Penelitian (eksplan kina pada pengamatan 12 MST dengan masing-masing perlakuan)	63
8. Karakteristik Tanaman Kina ( <i>Cinchona succirubra</i> Pavon)	65



# **RESPON PERTUMBUHAN TANAMAN KINA (*Cinchona succirubra* Pavon) DENGAN PEMBERIAN NAA DAN KINETIN SECARA *IN VITRO***

## **Abstrak**

Penelitian mengenai respon pertumbuhan tanaman kina (*Cinchona succirubra* Pavon) dengan pemberian NAA dan Kinetin secara *in vitro* telah dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas, Padang, dari bulan Juni sampai dengan Oktober 2014. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan interaksi antara NAA dan Kinetin terbaik terhadap pertumbuhan tanaman kina (*Cinchona succirubra* Pavon) secara *in vitro*. Penelitian ini menggunakan percobaan faktorial dua faktor yang disusun berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Faktor pertama adalah konsentrasi NAA yang terdiri atas 4 taraf yaitu:  $A_1 = 0$  mg/l,  $A_2 = 0,5$  mg/l,  $A_3 = 1,0$  mg/l, dan  $A_4 = 1,5$  mg/l. Faktor kedua adalah konsentrasi Kinetin yang terdiri atas 4 taraf yaitu:  $B_1 = 2$  mg/l,  $B_2 = 4$  mg/l,  $B_3 = 6$  mg/l, dan  $B_4 = 8$  mg/l. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji F dan jika uji F hitung lebih besar dari F tabel 5% maka dilanjutkan dengan *Duncan's New Multiple Range Test* (DNMRT) pada taraf nyata 5%. Hasil Penelitian menunjukkan bahwa terdapat interaksi terbaik antara NAA dan Kinetin terhadap presentase eksplan berkalus 100% yaitu konsentrasi NAA 0,5 mg/l dengan Kinetin 4 mg/l, konsentrasi NAA 1,0 mg/l dengan Kinetin 2 mg/l, 4 mg/l, 6 mg/l, dan 8 mg/l, dan konsentrasi NAA 1,5 mg/l dengan Kinetin 2 mg/l. Pemberian NAA dengan konsentrasi 1,0 mg/l memberikan pertumbuhan terbaik terhadap jumlah akar 9,92 buah dan panjang akar terpanjang 2,82 cm. Pemberian NAA dengan konsentrasi 1,5 mg/l memberikan pertumbuhan terbaik terhadap presentase eksplan bertunas dan berakar 58,34% dan bobot segar eksplan bertunas dan berakar 0,88 g. Pemberian Kinetin dengan konsentrasi 4 mg/l memberikan pertumbuhan terbaik terhadap jumlah akar 7,58 buah dan panjang akar terpanjang 2,60 cm.

Kata Kunci : *Cinchona succirubra*, Pertumbuhan, NAA, Kinetin, *in vitro*



# **THE GROWTH RESPONSE OF QUININE PLANTS (*Cinchona succirubra* Pavon) GIVEN NAPHTHALENE ACETIC ACID AND KINETIN *IN VITRO***

## ***Abstract***

*This research was conducted in the Tissue Culture Laboratory, Department of Agriculture Cultivation, Faculty of Agriculture, University of Andalas, Padang, from June until October 2014. The aim of this research was to determine the best concentrations of Naphthalene Acetic Acid and Kinetin for growth of quinine plants (*Cinchona succirubra* Pavon) in vitro. This research used a completely randomized design with two factors. The first factor was Naphthalene Acetic Acid concentration (0, 0.5, 1.0, and 1.5 mg/l). The second factor was Kinetin concentration (2, 4, 6, and 8 mg/l). Data were analyzed statistically using the F test and significant differences were analysed further with Duncan's New Multiple Range Test also at the 5% level. The following combinations of Naphthalene Acetic Acid and Kinetin gave 100% callus formation : Naphthalene Acetic Acid 0.5 mg/l and Kinetin 4 mg/l; Naphthalene Acetic Acid 1.0 mg/l and Kinetin 2, 4, 6, or 8 mg/l; and Naphthalene Acetic Acid 1.5 mg/l and Kinetin 2 mg/l. Analysed separately, Naphthalene Acetic Acid at a concentration of 1.0 mg/l gave the highest number of roots (9.92) and the longest roots (2.82 cm). Naphthalene Acetic Acid at a concentration of 1.5 mg/l gave the highest percentage of explants forming buds and roots (58.34%) and fresh weight of explants forming buds and roots (0.88 g). Similarly Kinetin at a concentration of 4 mg/l gave the highest number of roots (7.58) and the longest roots (2.60 cm).*

**Keywords :** *Cinchona succirubra, Growth, Naphthalene Acetic Acid, 6-furfurylaminopurine, In Vitro*



## BAB I PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Tanaman kina (*Cinchona* spp.) merupakan salah satu tanaman obat yang digunakan sebagai penghasil bahan baku industri. Menurut Widayat (2000), kina (*Cinchona succirubra* dan *Cinchona ledgeriana*) merupakan tanaman industri penghasil senyawa alkaloid yang dapat digunakan dalam industri farmasi, kosmetik, industri makanan dan minuman serta agrokimia lainnya.

Tanaman kina merupakan tanaman yang menghasilkan empat jenis alkaloid utama yang bernilai ekonomi tinggi berupa kinine, sinkonine, kinidine, dan sinkonidine yang terdapat pada kulit batang kina. Menurut Sumaryono dan Riyadi (2005), kulit batang tanaman kina (*Cinchona* spp.) mengandung alkaloid kuinolin (*quinoline*) yang dapat digunakan sebagai obat penyakit malaria, jantung, kram (*night cramps*) dan penimbul rasa pahit (*bittering agent*) serta pencerah minuman ringan.

Pada tahun 1939, Indonesia merupakan pemasok 90% kebutuhan kina dunia dengan luas areal tanam 17.000 Ha dengan produksi 11.000 ton kulit kering per tahun. Akibat terlantarnya kebun kina dengan terjadinya penebangan secara besar-besaran sejak Perang Dunia II sampai tahun 1960-an areal produksi kina semakin menurun, padahal kebutuhan kulit kina semakin meningkat (Arifin *et al.*, 1995). Indonesia sebagai penghasil alkaloid kina berupa garam kina, akan tetapi sampai saat ini hasil tersebut masih belum mencukupi kebutuhan garam kina karena penanaman masih terbatas. Usaha untuk pemenuhan kebutuhan garam kina adalah melalui perluasan areal dan peremajaan tanaman. Perseroan Terbatas Perkebunan Nusantara VIII merencanakan untuk melakukan perluasan areal hingga tahun 2008 mencapai 10.000 Ha (Santoso dan Wibowo, 2000).

Menurut Ditjen Perkebunan Jawa Barat (2006) dalam Perum Perhutani (2006) bahwa dewasa ini kebutuhan dunia akan kinine dan kinidine sebesar 600 ton garam kina per tahun, namun Indonesia hanya mampu memenuhi kurang dari 50% nya. Dari segi luas areal tanaman kina juga terus berkurang. Berdasarkan data statistik Dinas Perkebunan Propinsi Jawa Barat tahun 2000 tercatat seluas 4.552,71 ha, tahun 2004 tercatat areal tanaman kina seluas 4.411,35 ha, sedangkan

tahun 2013 tercatat areal tanaman kina di Jawa Barat tinggal sekitar 3.150 ha. Ini terbagi di sentra produksi utama tanaman kina nasional PTPN VIII total 3.000 ha serta PT. Kimia Farma Bintang sekitar 150 ha (Rosyadi, 2013).

Perbanyakan tanaman kina secara konvensional biasanya dilakukan dengan biji, setek, sambung dan okulasi. Namun penyediaan bibit melalui biji menghasilkan keragaman tanaman yang tinggi akibat adanya penyerbukan silang sehingga menghasilkan turunan yang umumnya mempunyai kandungan kuinolin yang lebih rendah. Perbanyakan menggunakan setek menghadapi kesulitan dalam menginduksi perakaran, sedangkan teknik sambung dan okulasi memerlukan batang bawah dalam jumlah besar selain perlu adanya kesesuaian antara batang bawah dan batang atas (Arifin *et al.*, 1995). Kendala lain yang dihadapi dalam penyediaan bibit secara konvensional antara lain menggunakan setek sambung, memerlukan waktu cukup lama yaitu 10-12 bulan, dengan kematian mencapai 20-30%. Selain itu, dengan teknik pembibitan secara konvensional pemenuhan kebutuhan bibit jarak jauh juga menjadi kendala, kematian akibat pengangkutan cukup tinggi, yaitu mencapai 50% (Sukasmono *et al.*, 1980).

Untuk mengatasi permasalahan ini diperlukan budidaya kultur jaringan (*in vitro*). Kultur jaringan tanaman merupakan suatu upaya mengisolasi bagian-bagian tanaman (protoplas, sel, jaringan, dan organ), kemudian mengkulturkannya pada nutrisi buatan yang steril di bawah kondisi lingkungan terkendali sehingga bagian-bagian tanaman tersebut dapat bergenerasi menjadi tanaman lengkap kembali (Zulkarnain, 2011). Perbanyakan secara kultur jaringan akan menawarkan peluang besar untuk menghasilkan jumlah bibit yang banyak dalam waktu relatif singkat. Selain itu, kultur jaringan juga dapat mempertahankan sifat induk yang unggul dan dapat menghasilkan bibit yang bebas cendawan, bakteri, virus dan hama penyakit (Prihandana dan Hendroko, 2006).

Eksplan merupakan bahan tanam yang digunakan untuk perbanyakan tanaman secara *in vitro*. Eksplan yang baik adalah eksplan yang bebas dari organisme lain dan memiliki sifat yang baik dalam pertumbuhan. Menurut Zulkarnain (2011) bahwa perbanyakan tanaman secara vegetatif konvensional, jaringan-jaringan juvenilnya sering memperlihatkan peluang keberhasilan yang



lebih besar. Peluang keberhasilan perbanyak tanaman secara *in vitro* meningkat pula dengan digunakannya jaringan-jaringan muda sebagai bahan eksplan.

Kemampuan eksplan untuk beregenerasi sangat ditentukan oleh media yang digunakan dan komposisi zat pengatur tumbuh dalam media. Pada kultur jaringan dikenal banyak jenis media yang digunakan. Media MS digunakan hampir semua kultur jaringan. Walaupun unsur-unsur makro dalam media MS dibuat untuk kultur kalus tembakau, tetapi komposisi MS pada umumnya juga mendukung kultur tanaman lainnya (Gunawan, 1988).

Dalam pelaksanaan teknik kultur jaringan tidak dapat terlepas dari penggunaan zat pengatur tumbuh. Zat pengatur tumbuh (ZPT) adalah salah satu komponen penting dalam kultur jaringan dan media tumbuh eksplan. Dua golongan ZPT yang sangat penting dalam kultur jaringan adalah golongan auksin dan sitokinin. Kemampuan jaringan tanaman untuk membentuk akar bergantung pada auksin yang ditambahkan ke dalam media. Sedangkan penambahan sitokinin digunakan untuk merangsang pembelahan sel dan inisiasi pucuk tanaman. NAA (*Napthalene Asetic Acid*) merupakan salah satu auksin sintetik yang berperan dalam merangsang pembentukan akar, tunas, dan kalus. NAA adalah salah satu ZPT yang banyak digunakan dalam kultur jaringan, hal ini disebabkan karena NAA memiliki sifat yang lebih tahan, tidak mudah terdegradasi, dan lebih murah.

Menurut Tahardi dan Riyadi (2005), melaporkan hasil penelitiannya tentang pengaruh NAA dan IBA terhadap pertumbuhan dan perkembangan tunas kina (*Cinchona succirubra*), asal tunas pucuk secara *in vitro* dapat tumbuh dan berkembang pada media Murashige dan Skoog (MS) standar yang mengandung sukrosa 30 g/l dan diberi NAA 0,1-2,0 mg/l (secara tunggal) dan 0,05-1,0 mg/l yang dikombinasikan dengan IBA. Hasil terbaik diperoleh pada konsentrasi NAA 0,05 mg/l dikombinasikan dengan IBA 0,05 mg/l dengan rata-rata pertumbuhan tinggi tunas (36,28 mm), jumlah daun terbanyak (12,5 buah) pada perlakuan NAA tunggal 1,0 mg/l, dan frekuensi pengakaran (13,1 buah) selama empat minggu.

Kinetin (*6-furfurylaminopurine*) merupakan salah satu sitokinin sintetik yang mempunyai peran dalam merangsang pembelahan sel, pembentukan tunas, dan menghambat pembentukan akar. Kinetin merupakan ZPT yang sering digunakan setelah BAP. Menurut George dan Sherington (1984), Kinetin

mempunyai struktur dasar yang sama dengan BA tetapi BA lebih efektif karena mempunyai gugus benzil.

Penggunaan tunas pada tanaman berkayu atau tanaman tahunan seperti gaharu, cendana, belimbing, sukun, dan melinjo pada umumnya memerlukan zat pengatur tumbuh dalam konsentrasi yang lebih tinggi berkisar antara 5-10 mg/l, untuk meningkatkan kemampuan proliferasi tunas dan kadang perlu ditambahkan thidiazuron atau auksin seperti IAA dalam konsentrasi yang rendah (0,1-0,3 mg/l). Sebaliknya, pada tanaman herba seperti mentha, seruni, dan rami, diperlukan sitokinin seperti BA dan Kinetin konsentrasi rendah, yaitu berkisar 0,1-1 mg/l (Seswita *et al.*, 1996 dalam Lestari, 2011). Menurut Mahadi *et al.*, (2013), pemberian NAA 0,4 mg/l yang dikombinasikan dengan Kinetin 3 mg/l merupakan perlakuan terbaik dengan menghasilkan jumlah tunas pada eksplan buah Naga (*Hylocereus costicensis*) 2,25 buah, sedangkan pada pemberian NAA 0,4 mg/l yang dikombinasikan dengan Kinetin 4 mg/l merupakan perlakuan terbaik dengan menghasilkan jumlah akar pada eksplan buah Naga (*Hylocereus costicensis*) yaitu 5,25.

Berdasarkan kebutuhan zat pengatur tumbuh untuk pertumbuhan dan perkembangan planlet, maka dalam media tanam perlu ditambahkan auksin dan sitokinin. Penggunaan konsentrasi NAA yang lebih tinggi dari Kinetin dapat mendorong pembentukan akar, sedangkan Kinetin yang lebih tinggi dari NAA dapat mendorong pembentukan tunas pada eksplan. Interaksi zat pengatur tumbuh eksogen (NAA dan Kinetin) dengan kandungan hormon tumbuh endogen pada tanaman dapat memacu pertumbuhan eksplan, terutama pembentukan akar, tunas dan daun, kalus, menginduksi tunas dari kalus, dan dapat mengarahkan proses morfogenesis. Konsentrasi dari kedua senyawa ini juga dapat mempengaruhi jumlah daun, tinggi tunas, jumlah perakaran, dan dapat membentuk planlet tanaman kina.

Berdasarkan latar belakang permasalahan yang ada maka penulis telah melakukan penelitian dengan judul **“Respon Pertumbuhan Tanaman Kina (*Cinchona succirubra* Pavon) dengan Pemberian NAA dan Kinetin Secara *In Vitro*”**.



## B. Perumusan Masalah

Permasalahan pertumbuhan tanaman secara *in vitro* dengan zat pengatur tumbuh yang diberikan baik untuk pembentukan tunas maupun akar menimbulkan beberapa pertanyaan, yaitu:

1. Bagaimanakah respon pertumbuhan tanaman kina (*Cinchona succirubra* Pavon) yang diberi zat pengatur tumbuh NAA dan Kinetin secara *in vitro*.
2. Bagaimanakah respon pertumbuhan tanaman kina (*Cinchona succirubra* Pavon) yang diberi zat pengatur tumbuh NAA secara *in vitro*.
3. Bagaimanakah respon pertumbuhan tanaman kina (*Cinchona succirubra* Pavon) yang diberi zat pengatur tumbuh Kinetin secara *in vitro*.

## C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini, yaitu:

1. Mendapatkan interaksi antara NAA dan Kinetin terbaik terhadap pertumbuhan tanaman kina (*Cinchona succirubra* Pavon) secara *in vitro*.
2. Mendapatkan konsentrasi NAA terbaik terhadap pertumbuhan tanaman kina (*Cinchona succirubra* Pavon) secara *in vitro*.
3. Mendapatkan konsentrasi Kinetin terbaik terhadap pertumbuhan tanaman kina (*Cinchona succirubra* Pavon) secara *in vitro*.

## D. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang diharapkan dari hasil penelitian ini, yaitu:

1. Mengetahui cara perbanyakan tanaman kina (*Cinchona succirubra* Pavon) melalui kultur jaringan dengan menggunakan NAA dan Kinetin sebagai pemacu pertumbuhan tanaman tersebut.
2. Sebagai bahan masuk dan pertimbangan bagi mahasiswa yang akan melakukan penelitian tanaman kina (*Cinchona succirubra* Pavon) secara *in vitro*.
3. Sebagai sumber informasi bagi peneliti dalam melakukan pengembangan tanaman kina (*Cinchona succirubra* Pavon) secara *in vitro*.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### A. Tanaman Kina

Tanaman kina (*Cinchona* spp.) termasuk famili *Rubiaceace* suku *Cinchonidea* yang terdiri dari beberapa spesies. Spesies tanaman kina (*Cinchona* spp.) yang pernah ada di Indonesia antara lain, yaitu: *Cinchona calisaya*, *Cinchona coloptera*, *Cinchona cordifolia*, *Cinchona josephiana*, *Cinchona ledgeriana*, *Cinchona officinalis*, *Cinchona micranta*, *Cinchona pahudiana*, dan *Cinchona trianae*. Di Indonesia, tanaman kina terdapat pada ketinggian 1700 m di atas permukaan laut. Genus *Cinchona* merupakan tanaman perdu yang senantiasa berwarna hijau dengan daun-daun tunggal saling berhadapan dan bersilang, bertepi halus, bertangkai, urat tengah kukuh dan kuat sedangkan urat cabang amat banyak. Bentuk daun berkisar dari bulat sampai lanset dan beberapa diantaranya berbulu. Pada ketiak cabang primer beberapa diantaranya memiliki rambut-rambut yang kaku. Pada pucuknya terdapat daun penumpu yang tumbuh menjadi satu dan cepat gugur (Arifin *et al.*, 1995).

Tanaman Kina *Cinchona succirubra* menonjol dalam pertumbuhan karena sifat pertumbuhannya yang cepat dan bentuk batang yang baik dan lurus serta membentuk dahan dan ranting pada ketinggian 4-6 cm, dahan sangat mudah patah, mempunyai daun yang lebar dengan panjang kira-kira 45 cm dan lebar kira-kira 35 cm, berwarna terang seperti *ledgeriana*, daun berwarna hijau kekuning-kuningan dalam keadaan turun hujan yang terus menerus. Bau bunga kina wangi dengan bunga yang berwarna-warni. Panjang sayap bijinya kira-kira 7 mm dan lebar 2-3 mm (Ettling, 2006).

Bunga-bunga merupakan *dichasium* yang menjadi bunga manjemuk yang berbentuk malai, bertangkai pendek, mempunyai daun pelindung. Bunga terdiri dari bakal buah, daun kelopak, tajuk yang berbentuk tabung dengan pinggiran tajuk berlekuk lima, dan berbau harum. Lima benang sari berseling dengan pinggiran tajuk, pada bunga bertangkai putik panjang (*makrostile*) terletak rendah, sedangkan pada bunga bertangkai putik pendek (*mikrostile*) terletak tinggi pada tajuk dan membelah ke dalam. Setiap tanaman hanya memiliki satu macam bunga tangkai putik pendek atau panjang. Buah berbentuk buah kotak, lonjong



memanjang, dapat membelah dengan dua katup, berisi sekitar 25 biji yang pipih dengan sayap tipis disekelilingnya dan berbentuk perisai. Biji amat kecil dan ringan, panjangnya berkisar antara 1,75-3,25 mm dan lebarnya 1,5-2,5 mm. Kina mulai berbunga pada umur 7 tahun dan umumnya berbunga lebat pada bulan Januari sampai April, sedangkan pada bulan lain berbunga tapi hanya sedikit. Penyerbukan umumnya hanya terjadi dengan bantuan serangga dan hampir tidak terjadi karena angin, sebab serbuk sari kina agak bergumpal dan basah (Arifin *et al.*, 1995).

Pohon kina dapat mencapai ketinggian  $\pm 25$  m dan keliling  $\pm 1,4$  m. Pohon tersebut mempunyai cabang-cabang yang berkembang dengan baik dan tajuk yang berbentuk piramida dan kerucut. Batangnya lurus berwarna coklat, dan biasanya ditutupi lumut keras (*korstmossen*) yang berwarna putih keabu-abuan atau kehijau-hijauan. Mempunyai akar tunggang dengan banyak cabang akar, (Groothoff, 2006).

Kulit kina mengandung lebih dari 20 alkaloid, yang kadarnya berbeda untuk setiap spesies (Arifin *et al.*, 1995). Empat jenis alkaloid utama tanaman kina adalah kinine, kinidine, sinkonine, dan sinkonidine. Kinine digunakan sebagai bahan tonik perantara senyawa pembuat vitamin B dan obat anti malaria, sedangkan kinidine digunakan sebagai obat pengatur irama denyut jantung (Dayrit *et al.*, 1994 dalam Toruan-Mathius *et al.*, 2009).

Kandungan kinine merupakan yang terbanyak dibandingkan dengan kinidine atau yang lainnya, sehingga mutu kulit kina dinilai dari kandungan alkaloid kinine. Dalam perdagangan umumnya dikenal dengan SQ7 atau SQ2 (*sulphate quinine 7 aqua* atau *2 aqua*) dan merupakan obat penyakit malaria yang mujarab. Kinidine berhasiat untuk mengoptimalkan kembali denyut jantung yang tidak normal. Kinine terdapat di semua bagian tanaman kina dari akar sampai bunga dan daun, tetapi kadar tertinggi terdapat di bagian kulit batang, cabang, dan ranting. Tinggi rendahnya kadar kinine dalam tanaman dipengaruhi oleh faktor dalam (jenis, spesies, varietas, klon), faktor luar (umur, kesuburan tanah, tinggi tempat, iklim) dan letak bagian tanaman. Kadar kinine dari pangkal tanaman ke arah ujung semakin rendah, sedangkan dalam kulit semakin ke dalam semakin kecil (Arifin *et al.*, 1995).

Kebutuhan kulit kina dirasakan semakin meningkat mengingat kegunaan alkaloid kina berupa kinine, kinidine, dan lainnya sangat diperlukan sebagai obat maupun sebagai bahan industri (Arifin *et al*, 1995). Permintaan terhadap bahan baku tersebut oleh industri minuman dan obat-obatan terus meningkat, sehingga produksi kulit kina perlu ditingkatkan melalui perluasan areal tanaman (Widayat, 2000).

Untuk memenuhi permintaan akan kina yang mengalami peningkatan, pemerintah merencanakan perluasan areal tanam mencapai 10.000 ha sampai tahun 2008. Untuk keperluan tersebut diperkirakan membutuhkan bibit sebanyak 50 juta bibit atau 10 juta bibit per tahun. Penyediaan bibit secara konvensional (stek sambung) tidak mampu memenuhi kebutuhan tersebut (Santoso *et al.*, 2004).

## **B. Kultur Jaringan**

Kultur jaringan merupakan suatu teknik menumbuhkembangkan bagian tanaman, baik berupa sel, jaringan, atau organ dalam kondisi aseptik secara *in vitro*, yang dicirikan oleh kondisi kultur yang aseptik, penggunaan media kultur buatan dengan kandungan nutrisi lengkap dan ZPT (zat pengatur tumbuh) serta kondisi ruang kultur yang suhu dan pencahayaannya terkontrol (Yusnita, 2004).

Prinsip dasar dalam kultur jaringan adalah teori totipotensi yang menyatakan bahwa di dalam masing-masing sel tumbuhan mengandung informasi genetik dan atau sarana fisiologis tertentu yang mampu membentuk tanaman lengkap bila ditempatkan dalam lingkungan yang sesuai (Wetherell, 1982). Suliansyah (2013) menyatakan bahwa suatu kemampuan sel untuk tumbuh dan berkembang menjadi individu yang sempurna jika ditempatkan pada suatu lingkungan yang sesuai untuk pertumbuhannya dan terkendali.

Beberapa keuntungan perbanyakan tanaman secara *in vitro* adalah tidak tergantung pada musim, perbanyakan dilakukan dalam waktu yang lebih singkat dengan hasil lebih banyak, seragam, dan kontinuitas dapat dikendalikan, bibit yang dihasilkan dapat bebas hama dan penyakit (sistemik dan non sistemik) serta virus, dan hanya membutuhkan sedikit ruangan (Warnita, 2012). Gunawan (1988), berpendapat bahwa kultur jaringan tanaman adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman seperti protoplasma, sel, sekelompok sel,



jaringan dan organ, serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik, sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap kembali.

Subkultur merupakan salah satu teknik yang sering dilakukan dalam kultur jaringan. Subkultur merupakan pemindahan kultur dari media yang lama ke media yang baru, baik media yang sama maupun media yang berbeda. Pierik (1987) menyatakan bahwa subkultur perlu dilakukan jika unsur hara dan hormon yang terdapat pada media telah berkurang atau habis, untuk merubah pola pertumbuhan dan perkembangan kultur, serta bila kultur telah memenuhi botol kultur.

Perbanyak tanaman melalui kultur jaringan (*in vitro*) menawarkan peluang besar untuk menghasilkan jumlah bibit tanaman yang banyak dalam waktu relatif singkat sehingga lebih ekonomis. Teknik perbanyak tanaman ini dapat dilakukan sepanjang waktu tanpa tergantung musim. Selain itu, perbanyak tanaman dengan teknik *in vitro* mampu mengatasi kebutuhan bibit dalam jumlah besar, serentak, dan bebas penyakit sehingga bibit yang dihasilkan lebih sehat serta seragam. Oleh sebab itu, saat ini perbanyak tanaman secara kultur jaringan merupakan teknik alternatif yang tidak dapat dihindari bila penyediaan bibit tanaman harus dilakukan dalam skala besar dan dalam waktu relatif singkat (Hambali *et al.*, 2006).

### C. Media Kultur

Media kultur adalah media steril yang digunakan untuk menumbuhkan sumber bahan tanaman menjadi bibit (Mariska dan Sukmadjaja, 2003 dalam Rahmawati, 2008). Keberhasilan dalam teknologi serta penggunaan metode *in vitro* terutama disebabkan pengetahuan yang lebih baik tentang kebutuhan hara sel dan jaringan yang dikulturkan. Hara terdiri dari komponen yang utama dan komponen tambahan. Komponen utama meliputi garam mineral, sumber karbon (gula), vitamin dan pengatur tumbuh. Komponen lain seperti senyawa nitrogen organik, berbagai asam organik, metabolit dan ekstrak tambahan tidak mutlak, tetapi dapat menguntungkan ketahanan sel dan perbanyakannya (Wetter dan Constabel, 1991).

George dan Sherington (1984) mengemukakan bahwa jenis media dibedakan berdasarkan bentuk fisiknya yaitu media padat dan media cair. Media padat dapat menghasilkan pertumbuhan tunas dan pucuk dengan cepat, morfogenesis dari kalus lebih baik, tunas serta akar tumbuh teratur dan tidak memerlukan pengocokan seperti pada media cair. Media ini juga memiliki kekurangan yaitu kontak dengan eksplan sedikit sehingga penyerapan hara dan zat pengatur tumbuh kurang efisien.

Setiap media kultur mempunyai kespesifikan yang tertentu. Media Murashige dan Skoog (MS) merupakan media kultur yang umum digunakan para ahli karena dapat dipakai untuk mengkulturkan berbagai macam tanaman, termasuk anggrek. Sementara itu, media Vacin dan Went (VW) merupakan media kultur yang khusus dipergunakan untuk anggrek (Sandra, 2003). Keistimewaan medium MS adalah kandungan nitrat, kalium, dan amoniumnya yang tinggi (Wetter dan Constabel, 1991).

#### **D. Eksplan**

Eksplan adalah bagian tanaman yang akan dikulturkan. Eksplan dapat berasal dari meristem, tunas, batang, antera, daun, embrio, hipokotil, biji, *rhizome*, akar atau bagian-bagian lain. Ukuran eksplan yang digunakan bervariasi dari ukuran mikroskopik ( $\pm 0,1$  mm) sampai 5 cm (Mariska dan Sukmadjaja, 2003 dalam Rahmawati, 2008).

Jaringan-jaringan yang sedang aktif tumbuh pada awal masa pertumbuhan biasanya merupakan bahan eksplan yang paling baik. Jaringan yang kurang aktif sering menginginkan modifikasi jenis dan takaran zat pengatur tumbuh selama pengkulturkan. Sejalan dengan semakin tuanya organ tanaman eksplan yang diambil, proses pembelahan dan regenerasi sel cenderung untuk menurun (Hartmann *et al.*, 1990 dalam Zulkarnain, 2011).

Menurut Suryowinoto (1996), meristem merupakan kumpulan sel-sel yang aktif membelah, sel-selnya kecil, inti sel relatif lebih besar, penuh plasma, vakuola kecil dan banyak kelihatan seperti busa dan buih, mempunyai dinding sel tipis dan biasanya masing-masing terdiri dari dinding primitif yang tersusun dari pektin dan propektin.



Keberhasilan perbanyak secara *in vitro* tergantung pada beberapa faktor pembatas, yaitu kontaminan yang dapat terjadi pada setiap saat dari kultur eksplan yang digunakan, kemampuan regenerasi, tingkat fisiologi dan kesehatan eksplan, media dasar serta zat pengatur tumbuh (Wattimena *et al.*, 1992). Menurut George dan Sherrington (1984) menyatakan bahwa ukuran eksplan yang akan dikulturkan juga berpengaruh terhadap morfogenetiknya. Ukuran eksplan yang terlalu kecil kurang daya tahannya bila dikulturkan sedangkan ukuran eksplan yang terlalu besar sering terjadi kontaminasi.

#### **E. Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)**

Zat pengatur tumbuh pada tanaman adalah senyawa organik bukan hara, yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung, menghambat, dan dapat merubah proses fisiologi tumbuhan. Zat pengatur tumbuh dalam tanaman terdiri dari lima kelompok yaitu auksin, giberelin, sitokinin, etilen, dan inhibitor dengan ciri khas serta pengaruh yang berlainan terhadap proses fisiologis. Zat pengatur tumbuh sangat diperlukan sebagai komponen media bagi pertumbuhan dan diferensiasi. Tanpa penambahan zat pengatur tumbuh dalam media, pertumbuhan sangat terhambat bahkan mungkin tidak tumbuh sama sekali. Pembentukan kalus dan organ-organ ditentukan oleh penggunaan yang tepat dari zat pengatur tumbuh tersebut (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Auksin merupakan salah satu golongan fitohormon, baik yang alamiah maupun yang sintetik, menginduksi pemanjangan sel dan juga dalam kasus tertentu pembelahan sel. Golongan persenyawaan ini juga mempengaruhi dominansi apikal, penghambatan pucuk aksilar dan adventif, serta inisiasi pengakaran (Wattimena *et al.*, 1992). Dalam aktivitas kultur jaringan, auksin sangat dikenal sebagai hormon yang mampu berperan menginduksi kalus, menghambat kerja sitokinin dalam membentuk klorofil dalam kalus, mendorong proses morfogenesis kalus membentuk akar atau tunas, mendorong proses embriogenesis, dan auksin juga dapat mempengaruhi kestabilan genetik sel tanaman (Santoso dan Nursandi, 2004).

Auksin yang paling banyak digunakan pada kultur *in vitro* adalah IAA (*Indole-3-Acetic Acid*), NAA (*Naphthalene Acetic Acid*), 2,4-D (2,4

*Diclorophenoxy Acetic Acid*). Jenis-jenis auksin yang lain seperti 2,4,5-T (2,4,5-*Trichlorophenoxy Acetic Acid*), IBA (*Indole-3-Butyric Acid*), dan 4-CPA (*p-Chlorophenoxy Acetic Acid*) juga merupakan senyawa yang efektif, tetapi penggunaannya tidak sebanyak tiga jenis auksin yang disebut terlebih dahulu. IAA merupakan auksin yang sintesis secara alamiah di dalam tubuh tanaman, namun senyawa ini mudah mengalami degradasi akibat pengaruh cahaya dan oksidasi enzimatis. Oleh karena itu, IAA biasanya diberikan pada konsentrasi yang relatif tinggi (1-30 mg/l). Sementara itu, NAA merupakan auksin sintetik, tidak mengalami oksidasi enzimatis, senyawa tersebut dapat diberikan pada medium kultur pada konsentrasi yang lebih rendah (0,1-2,0 mg/l) (Zulkarnain, 2011). Menurut Zaer dan Mapes (1985) dalam Alitalia (2008) bahwa NAA memiliki sifat kimia lebih stabil dibanding IAA dan tidak mudah teroksidasi oleh enzim. Anwar (2007) menyatakan bahwa NAA merupakan IAA sintetik yang sering digunakan karena memiliki sifat yang lebih tahan, tidak terdegradasi, dan lebih murah.

Sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang sangat berperan dalam memacu pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur jaringan. Induksi pembelahan sel dapat terjadi bila penggunaannya bersama auksin. Pada konsentrasi tinggi (1-10 mg/l) sitokinin dapat menginduksi pembentukan tunas adventif melalui pengurangan pengaruh dominasi apikal, tetapi induksi pembentukan akar dihambat. Pembelahan sel yang disebabkan oleh sitokinin dapat membentuk kalus dan mendorong proses embriogenesis somatik (Gaba, 2005).

Menurut Zulkarnain (2011), sitokinin adalah senyawa yang dapat meningkatkan pembelahan sel pada jaringan tanaman serta mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman, sama halnya dengan kinetin (6-*furfurylaminopurine*). Sitokinin yang paling banyak digunakan pada media kultur *in vitro* adalah Kinetin, benzil adenin (BA atau BAP), dan zeatin. Zeatin adalah sitokinin yang disintesis secara alamiah, sedangkan Kinetin dan BA adalah sitokinin sintetik. Menurut Armini *et al.*, (1991) secara umum dalam kultur jaringan, sitokinin yang lebih dahulu digunakan adalah BAP dan Kinetin yang lebih murah dan tahan terhadap degradasi.



Sitokinin mempunyai 2 peran penting dalam propagasi secara *in vitro*, yaitu perangsang pembelahan sel dalam jaringan dan merangsang pertumbuhan tunas. Sitokinin berinteraksi dengan auksin sedemikian rupa sehingga pemakaian bersama-sama harus mempertimbangkan kadar maupun perbandingannya dalam media. (Wetherell, 1982).

Sitokinin dan auksin memiliki peran yang sangat penting dalam hal menginduksi tunas adventif. Nisbah keduanya akan menentukan apakah suatu kalus akan membentuk tunas adventif, akar, atau tunas adventif dan akar (Armini *et al.*, 1991). Zulkarnain (2011) menambahkan bahwa pemberian auksin dan/atau sitokinin merupakan tindakan yang sangat penting dalam mengatur pembelahan sel, pemanjangan sel, diferensiasi sel, serta pembentukan organ tanaman di dalam sistem kultur jaringan.

### BAB III METODE PENELITIAN

#### A. Tempat dan Waktu

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas, Padang. Penelitian berlangsung mulai bulan Juni sampai dengan Oktober 2014. (Jadwal kegiatan penelitian dapat dilihat pada Lampiran 1).

#### B. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah eksplan (bahan tanam) nodus kedua tunas aksilar yang berasal dari eksplan *C. succirubra* hasil subkultur III yang telah berpucuk yang dikulturkan pada media MS dengan penambahan BAP 3 mg/l (Gambar 1), hal ini dilakukan agar eksplan yang akan digunakan seragam (berukuran tinggi  $\pm 1$  cm dengan jumlah daun 2 per eksplan) dan jumlahnya mencukupi. Eksplan yang akan digunakan telah berumur  $\pm 3$  bulan sejak disubkultur.



Gambar 1. Shootlet sumber eksplan *C. succirubra* yang digunakan dalam penelitian ini.

Bahan kimia yang digunakan meliputi media Murashige dan Skoog (MS) tahun 1962, NAA (*naphthalene acetic acid*), Kinetin (*6-furfuryl amino purine*), agar 8 g/l, gula 30 g/l, alkohol 70%, alkohol 96%, HCl 0,1N, NaOH 0,1N, betadin, bayclin, dan akuades steril.



Alat yang akan untuk pembuatan media digunakan adalah timbangan analitik, pipet ukur, pipet dan tip mikro, gelas piala, gelas ukur, erlenmeyer, botol kultur, botol *duran shoot*, pengaduk gelas (*sundip*), tisu, *magnetic stirrer*, *hot plate*, kertas lakmus, dan autoklaf. Untuk penyimpanan digunakan aluminium foil, plastik kaca, plastik *wrap*, kertas label, dan oven. Peralatan yang digunakan saat penanaman adalah *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), petridish, pinset, pisau *scalpel*, gunting eksplan, *hand sprayer*, dan lampu spiritus. Untuk pengamatan digunakan penggaris, kamera, buku *log book*, dan alat tulis. Ruang pemeliharaan dilengkapi pengatur suhu, lampu, dan rak tempat menyimpan botol kultur.

### C. Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial dengan menggunakan dua faktor perlakuan, yaitu:

- a. Faktor pertama yaitu konsentrasi NAA yang terdiri atas 4 taraf, yaitu:

$$0 \text{ mg/l} = A_1$$

$$0,5 \text{ mg/l} = A_2$$

$$1,0 \text{ mg/l} = A_3$$

$$1,5 \text{ mg/l} = A_4$$

- b. Faktor kedua yaitu konsentrasi Kinetin yang terdiri atas 4 taraf, yaitu:

$$2 \text{ mg/l} = B_1$$

$$4 \text{ mg/l} = B_2$$

$$6 \text{ mg/l} = B_3$$

$$8 \text{ mg/l} = B_4$$

Dengan demikian, kombinasi dua faktor tersebut menghasilkan 16 kombinasi perlakuan, dimana setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga dihasilkan 48 satuan percobaan (Denah penempatan botol kultur dapat dilihat pada Lampiran 2). Pada masing-masing satuan percobaan terdiri dari 3 botol kultur, sehingga diperoleh 144 botol kultur yang pada setiap botol terdapat 1 eksplan. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji F dan jika uji F hitung lebih besar dari F tabel 5% maka dilanjutkan dengan *Duncan's New Multiple Range Test* (DNMRT) pada taraf nyata 5%.

## **D. Pelaksanaan Penelitian**

### **1. Sterilisasi Alat dan Bahan**

Peralatan seperti botol kultur, petridish, pisau *scalpel*, gunting eksplan, dan pinset yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu menggunakan deterjen dan dibilas sampai bersih, selanjutnya botol direndam dengan bayclin selama 24 jam. Kemudian botol dan alat dibilas dengan air bersih. Alat-alat selain botol kultur dibungkus dengan kertas sebelum dimasukkan ke dalam autoklaf. Semua alat disterilisasi di dalam autoklaf dengan suhu  $121^{\circ}\text{C}$ , tekanan 15 psi selama 30 menit, dimana air autoklaf diganti terlebih dahulu setiap akan melakukan sterilisasi agar bakteri tidak tumbuh dan berkembang kembali. Alat-alat yang tidak langsung digunakan dapat disimpan dalam oven.

*Laminair Air Flow Cabinet* (L AFC) disemprot dengan alkohol 70% setiap akan digunakan dan alat-alat yang dimasukkan ke dalam L AFC juga harus disemprot dengan alkohol 70%. L AFC disterilisasi dengan menghidupkan lampu UV selama 1 jam sebelum penanaman. Ketika L AFC akan digunakan maka sinar UV harus dimatikan dan blower dihidupkan.

### **2. Pembuatan Larutan Stok Zat Pengatur Tumbuh NAA dan Kinetin**

Pembuatan larutan stok zat pengatur tumbuh NAA dan Kinetin dilakukan dengan membuat sesuai kebutuhan. Dimana konsentrasi NAA dan Kinetin di dalam perlakuan  $\geq 0,1$  mg/l maka stok dibuat dalam 1000 mg/l. Pertama, larutan stok ZPT dibuat dengan menimbang NAA dan Kinetin masing-masing sebanyak 50 mg, lalu dimasukkan ke dalam gelas piala ukuran 80 ml yang berisi akuades steril 20 ml. Kemudian larutan NAA diaduk sambil diteteskan NaOH 0,1 N dengan hati-hati sambil diaduk hingga larutan homogen, sedangkan untuk larutan Kinetin diaduk dan dipanaskan (menggunakan *magnetic stirrer* dan *hot plate*) sambil diteteskan HCl 0,1 N dengan hati-hati hingga larutan homogen. Setelah homogen, larutan NAA dan Kinetin dipindahkan ke dalam labu ukur dan ditambahkan lagi akuades steril hingga mencapai volume 50 ml. Setelah itu, larutan dipindahkan ke dalam botol *duran shoot* dan botol ditutup rapat serta diberi label (Stok NAA 1000 mg/l dan Stok kinetin 1000 mg/l). Kemudian botol disimpan dalam lemari es.



### 3. Pembuatan Media

Media yang digunakan pada penelitian ini adalah media Murashige dan Skoog (MS) tahun 1962 (Komposisi nutrisi media dasar MS dapat dilihat pada Lampiran 3) yang terdiri dari unsur makro, unsur mikro, dan vitamin. Zat kimia penyusun dibagi menjadi beberapa larutan stok (makronutrien, mikronutrien, zat besi, vitamin). Dalam larutan stok ini takaran dipekatkan sehingga dalam pembuatan media hanya dengan memipet sejumlah volume tertentu sesuai takaran yang diperlukan.

Penelitian ini menggunakan beberapa konsentrasi NAA (0, 0,5, 1,0, 1,5 mg/l) yang dikombinasikan dengan Kinetin (2, 4, 6, 8 mg/l). Total media yang dibuat sebanyak 4 liter dimana setiap perlakuan mempunyai volume 250 ml. Tahap pertama dalam pembuatan media dilakukan dengan mengambil dan memipet larutan stok makronutrien 100 ml/l, stok mikronutrien 10 ml/l, stok zat besi 5 ml/l, dan stok vitamin 1 ml/l (Pembuatan larutan stok pada media dasar MS dapat dilihat pada Lampiran 4), menimbang myo-inositol 100 mg/l, dan gula 30 g/l, kemudian dimasukkan ke dalam gelas piala ukuran 1 liter kemudian dicukupkan akuades steril hingga 400 ml. Selanjutnya, gelas piala dipanaskan dengan *hot plate* serta diaduk menggunakan *magnetic stirrer* sampai larutan homogen. Setelah homogen, larutan dibagi 4 dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer ukuran 250 ml dimana setiap erlenmeyer terdapat 100 ml larutan.

Kemudian dipipet NAA dan Kinetin sesuai perlakuan, dan dicukupkan akuades steril hingga volume 250 ml. Lalu erlenmeyer dipanaskan dengan *hot plate* serta diaduk menggunakan *magnetic stirrer* sampai larutan homogen. Setelah homogen, diukur pH larutan hingga 5,8-6,0 dengan menggunakan kertas lakmus. Bila terlalu rendah ditambahkan NaOH 0,1 N, sebaliknya bila terlalu tinggi ditambahkan HCl 0,1 N. Jika pH telah sesuai, ditambahkan agar sebanyak 2 g/250 ml ke dalam media lalu ditunggu hingga mendidih. Setelah mendidih, larutan tersebut dituangkan ke dalam botol kultur sebanyak 20-25 ml pada setiap botolnya. Kemudian botol ditutup rapat dengan aluminium foil dan diberi label sesuai perlakuan.

Tahap kedua, botol yang berisi media disterilisasi dengan autoklaf dengan suhu 121°C, tekanan 15 psi selama 20 menit. Setelah itu, botol-botol dilapisi

dengan plastik kaca dan diikat dengan karet gelang. Kemudian botol-botol ditempatkan pada ruangan inkubasi selama satu minggu guna untuk mengetahui apakah terdapat media yang terkontaminasi atau tidak, media yang terkontaminasi harus segera dikeluarkan.

#### 4. Pemberian Perlakuan

Pemberian perlakuan dilakukan pada saat pembuatan media. Dimana perlakuan dengan menggunakan NAA dan Kinetin dibuat dalam stok NAA 1000 mg/l dan stok Kinetin 1000 mg/l. Kemudian dilakukan pemipetan, dimana pemipetan dilakukan langsung pada saat pembuatan media. Untuk konsentrasi NAA 0 mg/l tidak dilakukan pemipetan ( $A_1$ ), NAA 0,5 mg/l dipipet sebanyak 0,5 ml/l ( $A_2$ ), NAA 1,0 mg/l dipipet sebanyak 1 ml/l ( $A_3$ ), dan NAA 1,5 mg/l dipipet sebanyak 1,5 ml/l ( $A_4$ ), sedangkan untuk konsentrasi Kinetin 2 mg/l dipipet sebanyak 2 ml/l ( $B_1$ ), Kinetin 4 mg/l dipipet sebanyak 4 ml/l ( $B_2$ ), Kinetin 6 mg/l dipipet sebanyak 6 ml/l ( $B_3$ ), dan Kinetin 8 mg/l dipipet sebanyak 8 ml/l ( $B_4$ ) (Perhitungan kebutuhan NAA dan Kinetin dapat dilihat pada Lampiran 5).

#### 5. Penanaman Eksplan

Kegiatan penanaman eksplan dilakukan dalam keadaan aseptik dalam tempat yang steril berupa *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC). Botol kultur yang telah berisi media, alat tanam, bunsen, dan alat lainnya sebelum dan sudah digunakan disemprot terlebih dahulu dengan alkohol 70% dan dimasukkan ke dalam LAFC. Setelah itu, alat tanam seperti pinset, pisau *scalpel*, dan gunting eksplan yang akan digunakan direndam dengan alkohol 70% lalu dipanaskan diatas nyala api bunsen selama  $\pm 1$  menit agar alat-alat bebas dari mikroorganisme yang dapat menyebabkan kontaminasi.

Eksplan (bahan tanam) yang akan ditanam berasal dari kina hasil subkultur III yang telah berpucuk. Sumber eksplan yang digunakan untuk subkultur IV adalah nodus kedua yang berasal dari tunas aksilar pada kina hasil subkultur III. Dimana kina hasil subkultur III dikeluarkan dari botol kultur dan diletakkan dalam petridish steril, lalu eksplan nodus kedua dipotong menggunakan pisau *scalpel* dengan ukuran panjang setiap eksplan  $\pm 1$  cm dan tidak dilakukan proses sterilisasi lagi, karena eksplan ini berasal dari kina hasil subkultur III yang



ditumbuhkan secara *in vitro* dalam keadaan yang steril. Kemudian potongan eksplan nodus kedua dalam petridish langsung ditanam ke dalam botol kultur yang telah berisi media dimana hanya terdapat satu eksplan dalam satu botol. Setelah itu, botol kultur ditutup rapat menggunakan selotip dan dibalut dengan plastik *wrap* sambil didekatkan ke nyalaan api bunsen. Kemudian botol kultur yang telah berisi eksplan diberi label tanggal penanaman dan sesuai perlakuan. Selanjutnya, botol-botol kultur dapat ditempatkan pada rak ruangan inkubasi dan disusun berdasarkan denah penempatan perlakuan.

## 6. Pemeliharaan

Pemeliharaan meliputi menjaga kebersihan, pemisahan eksplan atau media yang terkontaminasi oleh mikroorganisme dari ruang inkubasi. Pemeliharaan botol-botol kultur dilakukan sejak penanaman pada media perlakuan sampai selesainya pengamatan. Pemeliharaan dilakukan dengan menyemprot botol-botol tersebut dengan alkohol 70% setiap hari. Dan pemeliharaan juga dapat dilakukan dengan menjaga temperatur ruang kultur tetap pada 18-25°C dengan kelembaban sebesar 70-80%. Jika terdapat eksplan yang terkontaminasi harus segera dipisahkan dan dikeluarkan dari ruang inkubasi karena dapat menyebabkan eksplan lain terkontaminasi.

## E. Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada seluruh eksplan yang ditanam dalam setiap botol kultur. Pengamatan dilakukan setiap minggu mulai dari awal sampai akhir selama dua belas minggu, peubah yang diamati meliputi:

### 1. Persentase Eksplan Bertunas dan Berakar (%)

Pengamatan ini diamati dan dilakukan pada akhir percobaan pada masing-masing perlakuan, dimana eksplan diamati adalah eksplan yang telah bertunas dan berakar. Eksplan bertunas dan berakar dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ eksplan bertunas dan berakar} = \frac{\text{Jumlah eksplan bertunas dan berakar}}{\text{Jumlah eksplan yang dikulturkan}} \times 100\%$$

## 2. Persentase Eksplan Berkalus (%)

Pengamatan ini diamati dan dilakukan pada akhir percobaan pada semua perlakuan, dimana eksplan berkalus dipisahkan dari eksplan yang tumbuh baik, sedangkan persentase eksplan berkalus pada pangkal eksplan dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ eksplan berkalus} = \frac{\text{Jumlah eksplan berkalus}}{\text{Jumlah eksplan yang dikulturkan}} \times 100\%$$

## 3. Jumlah Tunas per Eksplan (buah)

Pengamatan jumlah tunas diamati seminggu sekali pada minggu kedua sampai minggu kedua belas setelah tanam. Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung semua tunas yang muncul pada setiap perlakuan. Tunas yang dihitung adalah tunas yang daunnya telah membuka sempurna.

## 4. Tinggi Tunas (cm)

Pengamatan tinggi tunas diamati seminggu sekali pada minggu kedua sampai minggu kedua belas setelah tanam. Pengamatan dilakukan dengan cara mengukur tunas tertinggi yang tumbuh pada setiap perlakuan. Tinggi tunas diukur mulai dari tempat keluarnya tunas sampai titik tumbuh dengan menggunakan penggaris.

## 5. Jumlah Daun per Eksplan (buah)

Pengamatan jumlah daun diamati seminggu sekali pada minggu kedua sampai minggu kedua belas setelah tanam. Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung semua daun yang tumbuh pada setiap perlakuan.

## 6. Jumlah Akar per Eksplan (buah)

Pengamatan jumlah akar diamati pada minggu kedua belas setelah tanam. Planlet dikeluarkan dari dalam botol kultur, kemudian planlet direndam sampai agar lunak dalam air. Media yang tersisa pada akar planlet dibersihkan dengan menyemprot menggunakan *hand sprayer*. Hal ini dilakukan supaya akar planlet tersebut tidak ada yang putus. Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung jumlah akar yang sudah berukuran 0,5 cm yang berwarna putih atau coklat muda pada setiap perlakuan.



## 7. Panjang Akar Terpanjang (cm)

Pengamatan panjang akar terpanjang diamati pada minggu kedua belas setelah tanam. Pengamatan dilakukan dengan cara menentukan akar terpanjang dan diukur. Panjang akar diukur menggunakan penggaris.

## 8. Bobot Segar Eksplan Bertunas dan Berakar (g)

Pengamatan bobot segar eksplan bertunas dan berakar diamati pada minggu kedua belas setelah tanam, dimana bobot segar seluruh eksplan bertunas dan berakar diukur dengan cara menimbang dengan menggunakan timbangan analitik.

## 9. Kadar Klorofil

Pengamatan kadar klorofil diamati pada minggu kedua belas setelah tanam. Pengamatan dilakukan dengan mengamati perbedaan kadar klorofil pada setiap kombinasi perlakuan dengan menggunakan spektrofotometer.

Pengukuran kadar klorofil dilakukan dengan mengambil dan menimbang 50 mg daun kina pada setiap masing-masing perlakuan. Kemudian daun digerus dalam keadaan tanpa cahaya dengan menggunakan mortar dan ditambahkan 2 ml larutan Aceton 80%. Setelah daun halus, ditambahkan lagi larutan Aceton 80% hingga mencapai volume 10 ml. Larutan ekstrak tersebut dimasukkan ke dalam tabung *centrifuge* (diberi label sesuai perlakuan) dan disentrifugasi pada kecepatan 650 x g (2000 rpm, bila panjang radius *centrifuge* berjarak 14 cm dari porosnya) selama 15 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 645 dan 663 nm dengan menggunakan spektrofotometer. Selanjutnya, dicatat angka yang muncul pada layar spektrofotometer. Kemudian kadar klorofil dihitung dengan menggunakan rumus:

$$C_{\text{total}} = (20,2 \times D_{645} + 8,02 \times D_{663})/\text{LFW}$$

$$C_a = (12,7 \times D_{663} - 2,69 \times D_{645})/\text{LFW}$$

$$C_b = (22,9 \times D_{645} - 4,68 \times D_{663})/\text{LFW}$$

Keterangan:

$$C_{\text{total}} = \text{Total klorofil } (\mu\text{g per mg bobot segar daun})$$

$$C_a = \text{Klorofil a } (\mu\text{g per mg bobot segar daun})$$

$$C_b = \text{Klorofil b } (\mu\text{g per mg bobot segar daun})$$

$D_{645}$  = Absorbance reading at 645 nm

$D_{663}$  = Absorbance reading at 663 nm

LFW = Bobot segar sampel daun yang diekstraksi

(Chaniago, 2007)

## 10. Tekstur Kalus

Pengamatan tekstur kalus diamati pada minggu kedua belas setelah tanam. Pengamatan dilakukan dengan mengamati tekstur kalus yang terbentuk, apakah kalus yang kompak atau remah.

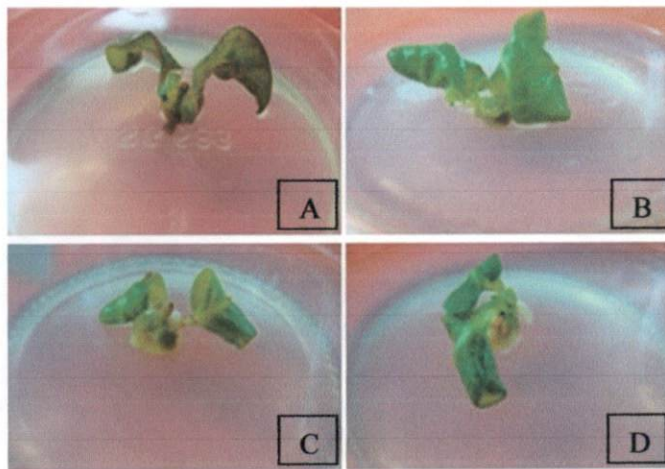


## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kondisi Umum

Eksplan (bahan tanam) yang diinokulasikan pada media MS dengan pemberian berbagai konsentrasi NAA dan Kinetin menunjukkan beragamnya pertumbuhan eksplan *C. succirubra* yang muncul pada penelitian ini. Adapun eksplan mengalami pertumbuhan dan perkembangan membentuk tunas saja, tunas dan kalus, kalus dan akar maupun tunas dan akar (Gambar 2). Pada eksplan yang mengalami pertumbuhan tunas, tunas-tunas aksilar mulai muncul pada 2 MST selanjutnya mengalami pertumbuhan memanjang diikuti dengan terbentuknya daun-daun baru yang berkembang sempurna. Selain itu, terjadi juga pembentukan kalus pada pangkal eksplan.

Pembentukan akar mulai muncul pada 3 MST pada pangkal eksplan yang mengalami pembengkakan akan tumbuh menjadi kalus, selanjutnya akar akan terbentuk dari kalus tersebut. Akar yang tumbuh dari kalus biasanya disebut akar adventif.



Gambar 2. Pertumbuhan eksplan *C. succirubra* pada umur 3 MST pada penelitian ini: (A) Eksplan bertunas saja, (B) Eksplan berkalus bertunas, (C) Eksplan berkalus berakar, (D) Eksplan bertunas berakar.

Pada penelitian ini terdapat juga eksplan yang mengalami pencoklatan atau *browning* pada umur 3 MST, namun jumlahnya relatif sedikit. Pencoklatan terjadi karena adanya pengaruh senyawa fenolik yang teroksidasi akibat perlukaan pada jaringan eksplan, sehingga menyebabkan keluarnya senyawa fenolik yang

mengakibatkan eksplan menjadi berwarna coklat, bisa menghambat pertumbuhan dan perkembangan eksplan atau bahkan dapat menyebabkan eksplan mati. Semua eksplan yang dilukai berpotensi mengeluarkan senyawa fenol. Senyawa fenol keluar akibat pecahnya vakuola yang ditimbulkan dari proses perlukaan.



Gambar 3. Pertumbuhan eksplan *C. succirubra* yang mengalami pencoklatan atau *browning* pada umur 3 MST.

1. Kadar Klorofil

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap kadar klorofil umur 12 MST yang dianalisis secara statistik dengan uji F tabel 5% (Lampiran 6a) bahwa pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin memperlihatkan pengaruh interaksi yang berbeda tidak nyata terhadap kadar klorofil. Pemberian beberapa konsentrasi NAA memperlihatkan pengaruh yang berbeda nyata terhadap kadar klorofil a, klorofil b, dan klorofil total. Pemberian beberapa konsentrasi Kinetin memperlihatkan pengaruh yang berbeda tidak nyata terhadap kadar klorofil. Data pengamatan kadar klorofil yang telah ditransformasi menggunakan  $\sqrt{(x+1)}$  dapat pada Tabel 1 (klorofil a), Tabel 2 (klorofil b), dan Tabel 3 (klorofil total).

Tabel 1. Kadar klorofil a dengan pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin pada umur 12 MST (transformasi  $\sqrt{(x+1)}$ ).

Konsentrasi NAA (mg/l)	Konsentrasi Kinetin (mg/l)				Rata-rata
	2	4	6	8	
	----- (mg/ml) -----				
0	0,20	0,18	0,25	0,20	0,21 a
0,5	0,15	0,14	0,09	0,11	0,12 b
1,0	0,18	0,06	0,08	0,15	0,12 b
1,5	0,09	0,14	0,17	0,19	0,15 ab
Rata-rata	0,16	0,13	0,15	0,16	
KK = 3,73%					

Data yang ditampilkan adalah data asli sedangkan untuk sidik ragam transformasi  $\sqrt{(x+1)}$ . Angka-angka pada kolom yang sama yang diikuti huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata menurut uji lanjut DNMRT pada taraf nyata 5%.



Tabel 2. Kadar klorofil b dengan pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin pada umur 12 MST (transformasi  $\sqrt{(x+1)}$ ).

Konsentrasi NAA (mg/l)	Konsentrasi Kinetin (mg/l)				Rata-rata
	2	4	6	8	
	----- (mg/ml) -----				
0	0,11	0,10	0,12	0,10	0,11 a
0,5	0,08	0,06	0,04	0,05	0,06 b
1,0	0,11	0,03	0,03	0,06	0,06 b
1,5	0,03	0,05	0,08	0,08	0,06 b
Rata-rata	0,24	0,19	0,22	0,23	
KK = 1,65%					

Data yang ditampilkan adalah data asli sedangkan untuk sidik ragam transformasi  $\sqrt{(x+1)}$ . Angka-angka pada kolom yang sama yang diikuti huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata menurut uji lanjut DNMRT pada taraf nyata 5%.

Tabel 3. Kadar klorofil total dengan pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin pada umur 12 MST (transformasi  $\sqrt{(x+1)}$ ).

Konsentrasi NAA (mg/l)	Konsentrasi Kinetin (mg/l)				Rata-rata
	2	4	6	8	
	----- (mg/ml) -----				
0	0,30	0,29	0,38	0,30	0,32 a
0,5	0,23	0,20	0,13	0,16	0,18 b
1,0	0,30	0,09	0,11	0,22	0,18 b
1,5	0,12	0,19	0,25	0,26	0,21 b
Rata-rata	0,24	0,19	0,22	0,23	
KK = 4,86%					

Data yang ditampilkan adalah data asli sedangkan untuk sidik ragam transformasi  $\sqrt{(x+1)}$ . Angka-angka pada kolom yang sama yang diikuti huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata menurut uji lanjut DNMRT pada taraf nyata 5%.

Pada Tabel 1 memperlihatkan bahwa kadar klorofil a pada pemberian NAA dengan konsentrasi 0 mg/l memberikan pengaruh berbeda nyata dengan konsentrasi 0,5 mg/l dan 1,0 mg/l tetapi berbeda tidak nyata dengan konsentrasi 1,5 mg/l, sedangkan pada pemberian NAA dengan konsentrasi 0,5 mg/l, 1,0 mg/l, dan 1,5 mg/l memberikan pengaruh yang berbeda tidak nyata sesamanya. Tabel 2 memperlihatkan bahwa kadar klorofil b pada pemberian NAA dengan konsentrasi 0 mg/l memberikan pengaruh berbeda nyata dengan konsentrasi 0,5 mg/l, 1,0 mg/l, dan 1,5 mg/l, sedangkan pada pemberian NAA dengan konsentrasi 0,5 mg/l, 1,0 mg/l, dan 1,5 mg/l memberikan pengaruh berbeda tidak nyata sesamanya. Ini berarti bahwa pemberian NAA dengan konsentrasi yang tinggi dapat mengalami penurunan kadar klorofil a dan klorofil b. Penurunan kadar klorofil a berpengaruh terhadap penurunan kadar klorofil b dan klorofil total. Klorofil a merupakan

pigmen yang mampu mengkatalisis fotosintesis secara langsung. Klorofil a berperan dalam menyerap energi cahaya dan merubah energi cahaya menjadi energi kimia. Klorofil b merupakan pigmen lain yang juga dapat menyerap energi cahaya tetapi tidak bisa merubahnya menjadi energi kimia, sehingga energi cahaya yang diserap ditransfer ke klorofil a kemudian baru digunakan dalam proses fotosintesis.

Klorofil merupakan zat hijau daun yang terdapat pada semua tumbuhan yang berfungsi untuk menangkap cahaya (fotosintesis). Dalam pembentukan pigmen klorofil membutuhkan unsur hara seperti N, Mg, Mn, Cu, Zn, S, dan Fe. Tabel 3 memperlihatkan bahwa pemberian NAA dengan konsentrasi 0 mg/l menghasilkan kadar klorofil tertinggi 0,32 mg/ml, sedangkan pada pemberian NAA dengan konsentrasi 0,5 mg/l, 1,0 mg/l, dan 1,5 mg/l menghasilkan kadar klorofil lebih rendah dibandingkan dengan konsentrasi 0 mg/l. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi NAA yang ditambahkan dalam media menyebabkan terjadinya penurunan kandungan klorofil a dan b. Menurut Kismonohadi (1989) dalam Anggarwulan (2002), kenaikan kadar auksin akan menurunkan kandungan klorofil. Penurunan kandungan klorofil ini diduga terjadi karena pengaruh auksin pada metabolisme karbohidrat. Auksin akan mengganggu aktivitas sitokinin dalam mengaktifkan proses metabolisme dan sintesis zat makanan. Hal ini sesuai dengan pendapat George dan Sherrington (1984), sitokinin dapat mendukung pembentukan klorofil sedangkan auksin bekerja untuk menghambatnya. Apabila metabolisme terganggu maka sintesis klorofil akan terganggu pula.

## **2. Persentase Eksplan Bertunas dan Berakar (%)**

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap persentase eksplan yang bertunas dan berakar umur 12 MST (Minggu Setelah Tanam) yang dianalisis secara statistik dengan uji F tabel 5% (Lampiran 6b) bahwa pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin memperlihatkan pengaruh interaksi yang berbeda tidak nyata terhadap persentase eksplan bertunas dan berakar. Pemberian beberapa konsentrasi NAA memperlihatkan pengaruh yang berbeda nyata terhadap persentase eksplan bertunas dan berakar. Pemberian beberapa konsentrasi Kinetin



memperlihatkan pengaruh yang berbeda tidak nyata terhadap persentase eksplan bertunas dan berakar. Hal ini menunjukkan karena beragamnya pertumbuhan eksplan yang muncul pada penelitian ini. Eksplan dapat menumbuhkan tunas saja, tunas dan kalus, akar dan kalus maupun tunas dan akar. Tampaknya, keragaman tipe pertumbuhan eksplan mempengaruhi persentase eksplan bertunas dan berakar yang dihasilkan. Data pengamatan persentase eksplan bertunas dan berakar yang telah ditransformasi menggunakan Arc.Sin  $\sqrt{x}$  dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Persentase eksplan bertunas dan berakar dengan pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin pada umur 12 MST (transformasi Arc.Sin  $\sqrt{x}$ ).

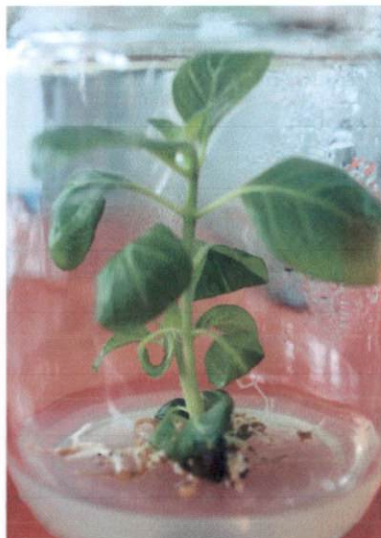
Konsentrasi NAA (mg/l)	Konsentrasi Kinetin (mg/l)				Rata-rata
	2	4	6	8	
	----- (%) -----				
0	0	0	0	0	0 b
0,5	22,22	88,89	44,44	44,45	50,00 a
1,0	66,67	55,56	22,22	44,44	47,22 a
1,5	55,56	66,67	66,67	44,44	58,34 a
Rata-rata	36,11	52,78	33,33	33,33	
KK = 38,52%					

Data yang ditampilkan adalah data asli sedangkan untuk sidik ragam transformasi Arc.Sin  $\sqrt{x}$ . Angka-angka pada kolom yang sama yang diikuti huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata menurut uji lanjut DNMRT pada taraf nyata 5%.

Pada Tabel 4 memperlihatkan bahwa pemberian NAA dengan konsentrasi 0 mg/l memberikan pengaruh yang berbeda nyata dengan konsentrasi 0,5 mg/l, 1,0 mg/l, dan 1,5 mg/l terhadap persentase eksplan bertunas dan berakar, sedangkan pada pemberian NAA dengan konsentrasi 0,5 mg/l, 1,0 mg/l, dan 1,5 mg/l memberikan pengaruh yang berbeda tidak nyata sesamanya. Pemberian NAA dengan konsentrasi 0,5 mg/l, 1,0 mg/l dan 1,5 mg/l telah mampu menghasilkan persentase eksplan bertunas dan berakar lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi 0 mg/l, sedangkan pemberian NAA dengan konsentrasi 0 mg/l menghasilkan persentase eksplan bertunas dan berakar terendah 0%. Hal ini disebabkan pemberian zat pengatur tumbuh auksin telah mampu untuk merangsang terbentuknya kalus, tunas, dan akar. Wetherell (1982) menyatakan bahwa peranan auksin di samping merangsang pembelahan dan pembesaran sel, terutama pada pucuk tanaman juga merangsang pembentukan akar.

Pada perlakuan tanpa penambahan NAA, semua eksplan yang bertunas tidak satupun dapat membentuk akar, sehingga belum mampu mendukung

terbentuknya eksplan bertunas dan berakar. Hal ini membuktikan bahwa pada eksplan masih perlu penambahan zat pengatur tumbuh eksogen untuk membentuk akar karena zat pengatur tumbuh endogen belum mampu menghasilkan akar pada eksplan bertunas. Rahardja (2007) mengatakan bahwa respon pertumbuhan eksplan yang dikultur tergantung pada interaksi serta keseimbangan antara zat pengatur tumbuh endogen yang ada pada eksplan dan zat pengatur tumbuh eksogen yang ditambahkan dalam media.



Gambar 4. Pertumbuhan tunas dan akar *C. succirubra* umur 12 MST

Pada Gambar 4 menunjukkan bahwa eksplan *C. succirubra* yang diinokulasi dalam media MS dengan pemberian zat pengatur tumbuh eksogen NAA (auksin) dan Kinetin (Sitokinin) dalam beberapa konsentrasi telah memberikan respon dalam pertumbuhan tunas dan akar. Hal ini sesuai dengan pendapat Ali *et al.*, (2007) bahwa keseimbangan antara auksin dan sitokinin mampu mengontrol pembentukan akar, tunas, dan kalus secara *in vitro*.

### 3. Persentase Eksplan Berkalus (%)

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap persentase eksplan berkalus umur 12 MST yang dianalisis secara statistik dengan uji F tabel 5% (Lampiran 6c) bahwa pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin memperlihatkan pengaruh interaksi yang berbeda nyata terhadap persentase eksplan berkalus. Data pengamatan persentase eksplan berkalus yang telah ditransformasi menggunakan  $\text{Arc.Sin } \sqrt{x}$  dapat dilihat pada Tabel 5.



Tabel 5. Persentase eksplan berkalus dengan pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin pada umur 12 MST (transformasi Arc.Sin  $\sqrt{x}$ ).

Konsentrasi NAA (mg/l)	Konsentrasi Kinetin (mg/l)			
	2	4	6	8
	----- (%) -----			
0	0 c B	0 c B	0 c B	66,67 b A
0,5	88,89 ab AB	100 a A	88,89 ab AB	66,67 b B
1,0	100 a A	100 ab A	100 a A	100 a A
1,5	100 ab A	88,89 ab A	88,89 ab A	88,89 ab A

KK = 13,07%  
Data yang ditampilkan adalah data asli sedangkan untuk sidik ragam transformasi Arc.Sin  $\sqrt{x}$ .  
Angka-angka pada kolom yang sama diikuti huruf kecil yang sama dan angka-angka pada baris yang sama diikuti oleh huruf besar yang sama berbeda tidak nyata menurut uji lanjut DNMRT pada taraf nyata 5%.

Pada Tabel 5 memperlihatkan bahwa pemberian NAA konsentrasi 0,5 mg/l dengan Kinetin 4 mg/l, pemberian NAA konsentrasi 1,0 mg/l dengan Kinetin 2 mg/l, 4 mg/l, 6 mg/l, dan 8 mg/l serta pemberian NAA konsentrasi 1,5 mg/l dengan Kinetin 2 mg/l menghasilkan respon persentase eksplan berkalus lebih tinggi dan memberikan pengaruh yang berbeda tidak nyata sesamanya. Sedangkan pada pemberian NAA konsentrasi 0 mg/l dengan Kinetin 2 mg/l, 4 mg/l, dan 6 mg/l memberikan respon persentase eksplan berkalus lebih rendah dan berbeda nyata dibandingkan dengan Kinetin 8 mg/l.

Pada pemberian NAA konsentrasi 0,5 mg/l dengan Kinetin 4 mg/l, pemberian NAA konsentrasi 1,0 mg/l dengan Kinetin 2 mg/l, 4 mg/l, 6 mg/l, dan 8 mg/l serta pemberian NAA konsentrasi 1,5 mg/l dengan Kinetin 2 mg/l menghasilkan persentase eksplan berkalus tertinggi 100% dan menunjukkan berbeda tidak nyata terhadap persentase eksplan berkalus. Ini berarti bahwa pemberian zat pengatur tumbuh berupa auksin (NAA) dan sitokinin (Kinetin) telah memberikan penambahan eksplan berkalus yang terbaik. Hal ini diduga karena penambahan zat pengatur tumbuh yang seimbang antara auksin dan sitokinin telah mampu menghasilkan kalus pada eksplan yang dikulturkan. Sari (2004) dalam Irawan *et al.*, (2009) menyatakan bahwa pemberian hormon sitokinin dan auksin yang berimbang akan memacu terbentuknya kalus. George dan Sherrington (1984) mengatakan bahwa kemampuan eksplan membentuk kalus

tergantung pada jenis dan kandungan hormon endogen serta interaksi antara zat pengatur tumbuh eksogen dan hormon endogen yang terdapat pada eksplan tersebut.

Kalus merupakan suatu kelompok sel yang aktif membelah diri secara terus menerus dan belum terorganisasi maupun terdiferensiasi. Menurut Sumardi (1996), pertumbuhan kalus dipengaruhi oleh beberapa faktor utama yang berhubungan langsung dengan eksplan seperti tempat eksplan tumbuh dan kehadiran zat pengatur tumbuh terutama auksin dan sitokinin dalam medium kultur dengan keseimbangan tertentu.

Pemberian NAA konsentrasi 0 mg/l dengan Kinetin 2 mg/l, 4 mg/l, dan 6 mg/l memberikan pengaruh yang berbeda tidak nyata sesamanya dan menunjukkan persentase eksplan berkalus terendah 0% jika dibandingkan dengan kombinasi lain yang telah mampu meningkatkan eksplan berkalus dan berbeda nyata dengan pemberian NAA konsentrasi 0 mg/l dengan Kinetin 8 mg/l. Hal ini menunjukkan bahwa pada pemberian NAA konsentrasi 0 mg/l dengan Kinetin 2 mg/l, 4 mg/l, dan 6 mg/l belum mampu mendorong terbentuknya kalus pada eksplan. Hal ini diduga karena pemberian Kinetin dengan konsentrasi yang tinggi akan semakin meningkatkan kandungan sitokinin dalam sel-sel eksplan, sehingga sitokinin bila bereaksi bersama auksin endogen akan merangsang dan meningkatkan pembelahan sel dalam jaringan meristematik. Kandungan sitokinin yang tinggi akan mendorong bagi pembentukan kalus. Menurut Wattimena (1988), sitokinin memiliki aktivitas utama dalam mendorong terjadinya proses pembelahan sel.

#### **4. Jumlah Tunas per Eksplan (buah)**

Jumlah tunas merupakan salah satu karakter yang memiliki peran penting dalam perbanyakan tanaman secara *in vitro*, karena menjadi dasar bagi jumlah planlet yang akan dihasilkan. Jumlah planlet yang dihasilkan pada akhir perbanyakan ditentukan oleh jumlah tunas yang tumbuh pada eksplan.

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap jumlah tunas per eksplan umur 12 MST (Minggu Setelah Tanam) yang dianalisis secara statistik dengan uji F tabel 5% (Lampiran 6d) bahwa pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin



memperlihatkan pengaruh interaksi yang berbeda tidak nyata terhadap jumlah tunas. Pemberian beberapa konsentrasi NAA memperlihatkan pengaruh yang berbeda nyata terhadap jumlah tunas. Pemberian beberapa konsentrasi Kinetin memperlihatkan pengaruh yang berbeda tidak nyata terhadap jumlah tunas. Data pengamatan jumlah tunas yang telah ditransformasi menggunakan  $\sqrt{(x+1)}$  dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Jumlah tunas dengan pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin pada umur 12 MST (transformasi  $\sqrt{(x+1)}$ ).

Konsentrasi NAA (mg/l)	Konsentrasi Kinetin (mg/l)				Rata-rata
	2	4	6	8	
	----- (buah) -----				
0	1,89	2,00	2,22	2,28	2,10 a
0,5	0,66	1,72	1,33	1,33	1,26 b
1,0	1,83	0,89	1,00	2,00	1,43 b
1,5	1,17	1,33	1,50	1,50	1,38 b
Rata-rata	1,39	1,49	1,51	1,78	
KK = 15,92%					

Data yang ditampilkan adalah data asli sedangkan untuk sidik ragam transformasi  $\sqrt{(x+1)}$ . Angka-angka pada kolom yang sama yang diikuti huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata menurut uji lanjut DNMRT pada taraf nyata 5%.

Pada Tabel 6 memperlihatkan bahwa pemberian NAA dengan kosentrasi 0 mg/l telah mampu meningkatkan pertumbuhan jumlah tunas dan berbeda nyata dibandingkan dengan konsentrasi 0,5 mg/l, 1,0 mg/l, dan 1,5 mg/l, sedangkan pada pemberian NAA dengan konsentrasi 0,5 mg/l, 1,0 mg/l, dan 1,5 mg/l memberikan pengaruh yang berbeda tidak nyata sesamanya.

Pemberian NAA dengan konsentrasi 0 mg/l menghasilkan jumlah tunas terbanyak 2,10 buah, sedangkan pada pemberian NAA dengan konsentrasi 0,5 mg/l, 1,0 mg/l, dan 1,5 mg/l menghasilkan jumlah tunas lebih rendah dibandingkan dengan konsentrasi 0 mg/l. Penggunaan NAA dengan konsentrasi 0 mg/l cukup efisien untuk menghasilkan jumlah tunas terbanyak pada parameter ini. Hal ini dapat dilihat bahwa dengan pemberian NAA konsentrasi 0 mg/l memperlihatkan jumlah tunas yang terbanyak dibandingkan dengan konsentrasi 0,5 mg/l, 1,0 mg/l, dan 1,5 mg/l. Hal ini diduga terjadi karena hormon endogen yang terdapat dalam eksplan sudah cukup untuk menghasilkan jumlah tunas paling banyak. Wattimena *et al.*, (1992) mengemukakan bahwa hormon endogen yang terdapat pada setiap tanaman berperan terhadap pertumbuhan dan perkembangan dari tanaman tersebut.

Pemberian NAA dengan konsentrasi yang lebih tinggi menghasilkan jumlah tunas yang dihasilkan lebih sedikit. Keadaan ini terjadi karena pemberian auksin pada konsentrasi yang tinggi akan membentuk kalus dan menghambat pertumbuhan tunas dan daun. Salisbury dan Ross (1995) menyatakan bahwa pemberian kadar auksin dan sitokinin dalam kadar seimbang maka akan menginduksi pertumbuhan kalus, sehingga pertumbuhan tunas akan terhambat.

5. Tinggi Tunas (cm)

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap tinggi tunas umur 12 MST yang dianalisis secara statistik dengan uji F tabel 5% (Lampiran 6e) bahwa pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin memperlihatkan pengaruh interaksi yang berbeda tidak nyata terhadap tinggi tunas. Data pengamatan tinggi tunas yang telah ditransformasi menggunakan  $\sqrt{(x+1)}$  dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Tinggi tunas dengan pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin pada umur 12 MST (transformasi  $\sqrt{(x+1)}$ ).

Konsentrasi NAA (mg/l)	Konsentrasi Kinetin (mg/l)				Rata-rata
	2	4	6	8	
	----- (cm) -----				
0	1,68	1,59	1,79	2,13	1,80
0,5	2,52	2,03	1,78	1,38	1,93
1,0	2,03	0,85	0,70	3,07	1,66
1,5	1,29	1,85	2,47	4,17	2,44
Rata-rata	1,88	1,58	1,69	2,69	

KK = 23,35%  
Data yang ditampilkan adalah data asli sedangkan untuk sidik ragam transformasi  $\sqrt{(x+1)}$ . Angka-angka pada kolom dan baris diatas berbeda tidak nyata menurut uji F pada taraf nyata 5%.

Pada Tabel 7 memperlihatkan bahwa pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin tidak terdapat interaksi yang nyata terhadap tinggi tunas. Begitupula dengan pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin secara tunggal juga memperlihatkan pengaruh yang berbeda tidak nyata terhadap tinggi tunas. Ini menunjukkan bahwa pemberian hormon eksogen seperti NAA dan Kinetin ternyata belum mampu memberikan pengaruh yang nyata dalam meningkatkan pertumbuhan tinggi tunas. Hal ini diduga karena hormon endogen pada eksplan kina dapat berpengaruh untuk merangsang pertumbuhan tinggi tunas. George dan Sherrington (1984) menyatakan bahwa kemampuan suatu eksplan untuk berdiferensiasi tidak hanya bergantung pada penambahan auksin



pada media pertumbuhan tetapi bergantung pula pada interaksi antara auksin endogen dan eksogen. Menurut Gunawan (1988), interaksi dan perimbangan zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dalam media dan yang diproduksi oleh sel tanaman secara endogen menentukan kecepatan dan arah perkembangan suatu kultur.

Menurut Yelnitis (2001) menyatakan bahwa pemberian hormon secara eksogen akan mengubah level hormon endogen yang terdapat pada tanaman. Jika hormon endogen telah mencukupi lalu eksplan dikulturkan pada medium yang ditambahkan zat pengatur tumbuh (ZPT) maka proses fisiologis pertumbuhan eksplan akan terhambat dan bahkan dapat menyebabkan kematian eksplan. Klerk (2006) dalam Matondang *et al.*, (2009) mengatakan bahwa zat pengatur tumbuh sitokinin dapat menghambat terjadinya pemanjangan sel sehingga eksplan yang ditanam tidak bertambah tinggi. Gunawan (1988) menyatakan bahwa berhasilnya pertumbuhan tunas selain ditentukan oleh jenis dan kadar oksigen, pertumbuhan juga bergantung pada sumber jaringan serta kadar medium hara. Unsur hara yang diserap tersedia bagi tanaman mendorong aktifitas metabolisme dalam jaringan tanaman dan menyebabkan sel-sel tanaman akan membelah. Tinggi respon jaringan untuk tumbuh, tergantung pada kemampuan auksin dan sitokinin yang ditambahkan ke dalam media untuk merubah zat pengatur tumbuh endogen dalam sel.

## **6. Jumlah Daun per Eksplan (buah)**

Daun merupakan salah satu organ vegetatif yang penting dalam pertumbuhan tanaman. Pertumbuhan daun pada tanaman dipengaruhi oleh unsur hara dalam media kultur jaringan. Daun sebagai pusat fotosintesis merupakan pembuat sumber energi bagi tanaman, dimana terbentuknya karbohidrat dipengaruhi oleh ketersediaan  $\text{CO}_2$  dan  $\text{H}_2\text{O}$  dengan bantuan sinar matahari. Sehingga semakin banyak daun pada tanaman maka dapat diindikasikan pertumbuhan tanaman akan semakin baik. Selain unsur hara, pemberian zat pengatur tumbuh ke dalam media akan mempengaruhi jumlah daun tanaman.

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap jumlah daun per eksplan umur 12 MST yang dianalisis secara statistik dengan uji F tabel 5% (Lampiran 6f) bahwa

pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin memperlihatkan pengaruh interaksi yang berbeda tidak nyata terhadap jumlah daun. Pemberian beberapa konsentrasi NAA memperlihatkan pengaruh yang berbeda nyata terhadap jumlah daun. Pemberian beberapa konsentrasi Kinetin memperlihatkan pengaruh yang berbeda tidak nyata terhadap jumlah daun. Pada penelitian ini, daun mulai terbentuk pada 2 MST setelah terbentuknya tunas terlebih dahulu. Daun yang dihitung sebagai parameter adalah daun yang sudah mekar atau membuka sempurna. Data pengamatan jumlah daun yang telah ditransformasi menggunakan  $\sqrt{(x+1)}$  dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Jumlah daun dengan pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin pada umur 12 MST (transformasi  $\sqrt{(x+1)}$ ).

Konsentrasi NAA (mg/l)	Konsentrasi Kinetin (mg/l)				Rata-rata
	2	4	6	8	
	----- (buah) -----				
0	14,22	14,89	16,00	17,89	15,75 a
0,5	6,67	11,72	11,33	10,39	10,03 b
1,0	10,83	4,11	6,33	13,44	8,68 b
1,5	7,33	7,33	8,83	12,33	8,96 b
Rata-rata	9,76	9,51	10,62	13,51	
KK = 31,31%					

Data yang ditampilkan adalah data asli sedangkan untuk sidik ragam transformasi  $\sqrt{(x+1)}$ . Angka-angka pada kolom yang sama yang diikuti huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata menurut uji lanjut DNMRT pada taraf nyata 5%.

Pada Tabel 8 memperlihatkan bahwa pemberian NAA dengan konsentrasi 0 mg/l telah mampu meningkatkan pertumbuhan jumlah daun dan berbeda nyata dibandingkan dengan konsentrasi 0,5 mg/l, 1,0 mg/l, dan 1,5 mg/l, sedangkan pada pemberian NAA dengan konsentrasi 0,5 mg/l, 1,0 mg/l, dan 1,5 mg/l memberikan pengaruh yang berbeda tidak nyata sesamanya.

Eksplan yang menghasilkan tunas yang banyak biasanya memiliki jumlah daun yang banyak juga. Jumlah daun terbanyak dipengaruhi oleh adanya kandungan hormon endogen pada eksplan. Pemberian NAA konsentrasi 0 mg/l menghasilkan jumlah daun terbanyak 15,75 buah, sedangkan pemberian NAA konsentrasi 0,5 mg/l, 1,0 mg/l, dan 1,5 mg/l menghasilkan jumlah daun lebih rendah dibandingkan dengan konsentrasi 0 mg/l. Seperti halnya jumlah tunas pada Tabel 6, penggunaan NAA dengan konsentrasi 0 mg/l cukup efisien untuk menghasilkan jumlah daun terbanyak pada parameter ini. Hal ini dapat dilihat bahwa pemberian NAA dengan konsentrasi 0 mg/l memperlihatkan jumlah daun



yang terbanyak dibandingkan dengan konsentrasi 0,5 mg/l, 1,0 mg/l, dan 1,5 mg/l. Hal ini diduga karena eksplan memiliki kandungan hormon sitokinin endogen yang cukup tinggi, sehingga eksplan telah memanfaatkan hormon endogen yang terdapat pada eksplan dalam menghasilkan jumlah daun terbanyak. Pemberian NAA dengan konsentrasi yang lebih tinggi menghasilkan jumlah daun yang dihasilkan lebih sedikit. Keadaan ini terjadi karena pemberian auksin pada konsentrasi yang tinggi akan membentuk kalus dan menghambat pertumbuhan daun, sehingga penambahan zat pengatur tumbuh ke dalam media akan mempengaruhi jumlah daun yang terbentuk. Wetherell (1982) menyebutkan bahwa perbandingan sitokinin-auksin yang tinggi, baik untuk pembentukan daun. Gunawan (1987) dalam Yuswindasari (2010) mengatakan bahwa interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam media dan yang diproduksi oleh sel endogen menentukan arah perkembangan suatu kultur. Penambahan auksin atau sitokinin eksogen dapat mengubah level zat pengatur tumbuhan endogen sel.

## **7. Jumlah Akar per Eksplan (buah)**

Akar merupakan organ vegetatif tanaman yang berfungsi dalam menyerap nutrisi (unsur hara) baik makro maupun mikro dan vitamin dari media kultur. Jumlah akar yang banyak dapat mengoptimalkan penyerapan nutrisi yang terdapat pada media kultur untuk kemudian digunakan dalam proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Menurut Mattjik (2005), pembentukan akar pada kultur jaringan dapat terjadi langsung pada eksplan yang ditanam, baik dari jaringan, maupun dari kalus jika ke dalam media diberikan auksin yang mencukupi.

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap jumlah akar per eksplan umur 12 MST yang dianalisis secara statistik dengan uji F tabel 5% (Lampiran 6g) bahwa pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin memperlihatkan pengaruh interaksi yang berbeda tidak nyata terhadap jumlah akar. Pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin secara tunggal masing-masing memperlihatkan pengaruh yang berbeda nyata terhadap jumlah akar. Perhitungan jumlah akar dilakukan pada akar yang telah berukuran 0,5 cm, berwarna putih atau coklat

muda, dan merupakan akar adventif. Data pengamatan jumlah akar yang telah ditransformasi menggunakan  $\sqrt{(x+1)}$  dapat dilihat pada Tabel 9.

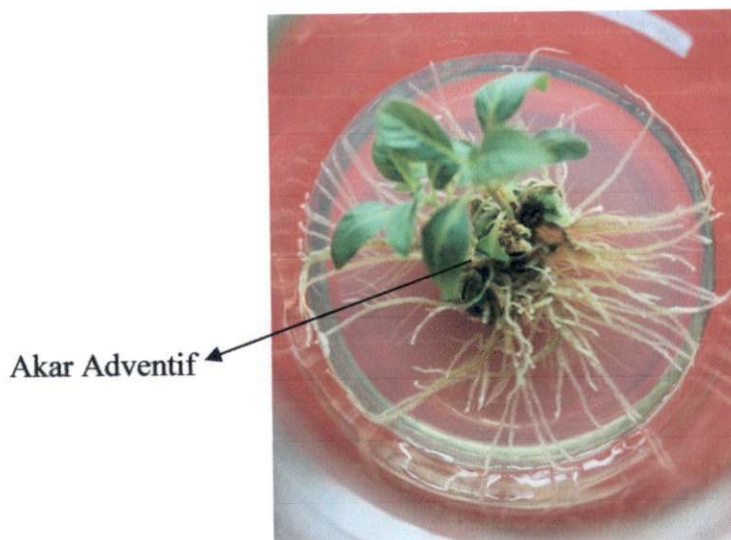
Tabel 9. Jumlah akar dengan pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin pada umur 12 MST (transformasi  $\sqrt{(x+1)}$ ).

Konsentrasi NAA (mg/l)	Konsentrasi Kinetin (mg/l)				Rata-rata
	2	4	6	8	
	----- (buah) -----				
0	0	0	0	0	0 d
0,5	2,67	6,44	5,50	2,00	4,15 c
1,0	8,39	14,78	10,83	5,67	9,92 a
1,5	6,11	9,11	7,22	5,89	7,08 b
Rata-rata	4,29 BC	7,58 A	5,89 AB	3,39 C	
KK = 21,30%					

Data yang ditampilkan adalah data asli sedangkan untuk sidik ragam transformasi  $\sqrt{(x+1)}$ . Angka-angka pada kolom yang sama diikuti huruf kecil yang sama dan angka-angka pada baris yang sama diikuti oleh huruf besar yang sama berbeda tidak nyata menurut uji lanjut DNMRT pada taraf nyata 5%.

Pada Tabel 9 memperlihatkan bahwa pemberian NAA dengan konsentrasi 0 mg/l, 0,5 mg/l, 1,0 mg/l, dan 1,5 mg/l memberikan pengaruh yang berbeda nyata sesamanya terhadap jumlah akar. Pemberian NAA dengan konsentrasi 1,0 mg/l menghasilkan jumlah akar terbanyak 9,92 buah, sedangkan pemberian NAA konsentrasi 0 mg/l menghasilkan jumlah akar terendah 0 buah. Dengan adanya pemberian NAA pada media dapat membuat kalus berdiferensiasi menjadi akar. Hal ini menunjukkan bahwa auksin yang ditambahkan dalam media dapat memicu pembentukan akar baik dalam konsentrasi rendah maupun tinggi. Wattimena *et al.*, (1992) menjelaskan bahwa pada tahap awal pengaruh auksin adalah pembentukan sekumpulan akar-akar lateral, tetapi pada tahap selanjutnya tidak terjadi penambahan pembentukan akar. Badriah *et al.*, (1998) menambahkan bahwa pemberian NAA dalam konsentrasi yang relatif tinggi dapat meningkatkan jumlah akar. Menurut Wattimena *et al.*, (1992), semakin cepatnya akar terbentuk pada media yang ditambahkan NAA menunjukkan bahwa auksin dapat mengaktifkan enzim-enzim yang berperan dalam pembuatan komponen sel sehingga begitu terjadinya pembelahan sel maka NAA akan merangsang pembentukan sel-sel dengan cepat, sehingga dapat menginisiasi pembentukan akar.





Gambar 5. Akar yang terbentuk pada kalus *C. succirubra* umur 12 MST

Pada pemberian Kinetin konsentrasi 4 mg/l dengan 6 mg/l memberikan pengaruh yang sama dan telah mampu menghasilkan jumlah akar lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi 2 mg/l dan 8 mg/l, sedangkan pemberian Kinetin dengan konsentrasi 2 mg/l dengan 8 mg/l menghasilkan jumlah akar lebih rendah dan memberi respon yang sama terhadap jumlah akar. Hal ini diduga bahwa sitokinin yang diberikan pada konsentrasi rendah ataupun yang paling tinggi menyebabkan pertambahan jumlah akar akan semakin kecil. Hal ini karena sitokinin mempunyai aktivitas dalam menghambat pembentukan akar, menghalangi pertumbuhan akar dan menghambat pengaruh auksin terhadap pembentukan akar. Zulkarnain (2011) menyatakan bahwa auksin biasanya meningkatkan inisiasi akar dan pertumbuhan kalus, namun penghambat pertumbuhan tunas, sedangkan sitokinin meningkatkan proliferasi pucuk dan pembelahan sel, namun menghambat inisiasi akar. Menurut Campbell *et al.*, (2003) dalam Sari (2009), jika sitokinin lebih banyak dari auksin maka akan terbentuk tunas, sebaliknya jika auksin lebih banyak dari sitokinin maka akan terbentuk akar.

### 8. Panjang Akar Terpanjang (cm)

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap panjang akar terpanjang umur 12 MST (Minggu Setelah Tanam) yang dianalisis secara statistik dengan uji F tabel 5% (Lampiran 6h) bahwa pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin

memperlihatkan pengaruh interaksi yang berbeda tidak nyata terhadap panjang akar terpanjang. Pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin secara tunggal masing-masing memperlihatkan pengaruh yang berbeda nyata terhadap panjang akar terpanjang. Data pengamatan jumlah akar yang telah ditransformasi menggunakan  $\sqrt{(x+1)}$  dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Panjang akar terpanjang dengan pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin pada umur 12 MST (transformasi  $\sqrt{(x+1)}$ ).

Konsentrasi NAA (mg/l)	Konsentrasi Kinetin (mg/l)				Rata-rata
	2	4	6	8	
	----- (cm) -----				
0	0	0	0	0	0 c
0,5	0,67	3,39	3,58	0,83	2,12 ab
1,0	3,10	4,08	2,62	1,47	2,82 a
1,5	1,61	2,94	1,98	1,78	2,08 ab
Rata-rata	1,35 BC	2,60 A	2,05 AB	1,02 C	

KK = 18,87%

Data yang ditampilkan adalah data asli sedangkan untuk sidik ragam transformasi  $\sqrt{(x+1)}$ . Angka-angka pada kolom yang sama diikuti huruf kecil yang sama dan angka-angka pada baris yang sama diikuti oleh huruf besar yang sama berbeda tidak nyata menurut uji lanjut DNMRT pada taraf nyata 5%.

Pada Tabel 10 memperlihatkan bahwa pemberian NAA dengan konsentrasi 0 mg/l memberikan pengaruh yang berbeda nyata dengan konsentrasi 0,5 mg/l, 1,0 mg/l, dan 1,5 mg/l terhadap panjang akar terpanjang, sedangkan pada konsentrasi 0,5 mg/l, 1,0 mg/l dan 1,5 mg/l memberikan pengaruh yang berbeda tidak nyata sesamanya.

Pemberian NAA dengan konsentrasi 0,5 mg/l, 1,0 mg/l, dan 1,5 mg/l menghasilkan panjang akar lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi 0 mg/l, sedangkan pada pemberian NAA konsentrasi 0 mg/l menghasilkan panjang akar terpendek 0 cm. Seperti halnya jumlah akar pada Tabel 9, pemberian NAA dengan konsentrasi 1,0 mg/l cukup efisien untuk menghasilkan panjang akar terpanjang pada parameter ini. Hal ini dapat dilihat bahwa pemberian NAA dengan konsentrasi 1,0 mg/l menghasilkan panjang akar lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi 0,5 mg/l dan 1,5 mg/l walaupun berbeda tidak nyata sesamanya. Ini berarti bahwa auksin yang ditambahkan dalam media dapat memicu pembentukan akar dan pertumbuhan akar baik dalam konsentrasi rendah maupun tinggi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Wetherell (1982) yang mengatakan bahwa supaya terjadi pertumbuhan akar, konsentrasi hormon



biasanya harus dirubah. Konsentrasi sitokinin harus dikurangi atau dihilangkan sama sekali. Sedangkan auksin penting dalam berperan sebagai inisiator pertumbuhan akar. Menurut Lakitan (1996), NAA adalah auksin eksogen yang mempunyai aktivitas fisiologis seperti IAA yang dapat memacu pertumbuhan akar.

Pada pemberian Kinetin konsentrasi 4 mg/l dengan 6 mg/l memberikan pengaruh yang sama dan telah mampu menghasilkan panjang akar terpanjang lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi 2 mg/l dan 8 mg/l, sedangkan konsentrasi 2 mg/l dengan 8 mg/l menghasilkan panjang akar terpanjang lebih pendek dan memberi respon yang sama terhadap panjang akar terpanjang. Hal ini diduga bahwa sitokinin yang diberikan pada konsentrasi rendah ataupun yang paling tinggi menyebabkan pertambahan panjang akar akan semakin kecil. Hal ini didukung oleh Wattimena *et al.*, (1992) yang mengatakan bahwa salah satu pengaruh sitokinin dalam kultur jaringan tanaman adalah menghambat pertumbuhan akar.

## 9. Bobot Segar Eksplan Bertunas dan Berakar (g)

Pertumbuhan tanaman dicirikan dengan bertambahnya berat yang bersifat *irreversible*, sehingga pengukuran bobot segar eksplan bertunas dan berakar dapat mewakili variabel pertumbuhan tunas, akar, dan kalus yang berasal dari eksplan *C. succirubra*. Menurut Ruswaningsih (2007), berat segar secara fisiologis terdiri dari dua kandungan, air dan karbohidrat.

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap bobot segar eksplan bertunas dan berakar umur 12 MST yang dianalisis secara statistik dengan uji F tabel 5% (Lampiran 6i) bahwa pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin memperlihatkan pengaruh interaksi yang berbeda tidak nyata terhadap bobot segar eksplan bertunas dan berakar. Pemberian beberapa konsentrasi NAA memperlihatkan pengaruh yang berbeda nyata terhadap bobot segar eksplan bertunas dan berakar. Pemberian beberapa konsentrasi Kinetin memperlihatkan pengaruh yang berbeda tidak nyata terhadap bobot segar eksplan bertunas dan berakar. Data pengamatan bobot segar eksplan bertunas dan berakar yang telah ditransformasi menggunakan  $\sqrt{(x+1)}$  dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Bobot segar eksplan bertunas dan berakar dengan pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin pada umur 12 MST (transformasi  $\sqrt{(x+1)}$ ).

Konsentrasi NAA (mg/l)	Konsentrasi Kinetin (mg/l)				Rata-rata
	2	4	6	8	
	----- (g) -----				
0	0	0	0	0	0 d
0,5	0,57	0,60	0,41	0,33	0,48 c
1,0	0,82	0,77	0,67	1,07	0,83 ab
1,5	0,50	1,07	0,99	0,95	0,88 a
Rata-rata	0,47	0,52	0,52	0,59	

KK = 11,38%

Data yang ditampilkan adalah data asli sedangkan untuk sidik ragam transformasi  $\sqrt{(x+1)}$ .

Angka-angka pada kolom yang sama yang diikuti huruf kecil yang sama berbeda tidak nyata menurut uji lanjut DNMRT pada taraf nyata 5%.

Pada Tabel 11 memperlihatkan bahwa pemberian NAA dengan konsentrasi 1,5 mg/l dengan 0 mg/l dan 0,5 mg/l memberikan pengaruh yang berbeda nyata, begitu juga dengan konsentrasi 1,0 mg/l dengan 0 mg/l dan 0,5 mg/l memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap penambahan bobot segar eksplan bertunas dan berakar, sedangkan pada konsentrasi 1,5 mg/l dengan 1,0 mg/l memberikan pengaruh yang berbeda tidak nyata.

Pemberian NAA dengan konsentrasi 1,0 mg/l dan 1,5 mg/l menghasilkan bobot segar eksplan bertunas dan berakar lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi 0 mg/l dan 0,5 mg/l, sedangkan pada konsentrasi 0 mg/l menghasilkan bobot segar eksplan bertunas dan berakar terendah 0 g. Hal ini diduga karena dengan pemberian zat pengatur tumbuh eksogen (NAA) dapat mendukung pertumbuhan jumlah dan panjang akar, sehingga mampu meningkatkan pertumbuhan sel-sel seperti pembelahan sel, pemanjangan sel, kemudian dilanjutkan dengan membesarnya tunas, akar, dan kalus. Unsur hara dan air dalam media diserap oleh akar untuk membangun sel-sel dan jaringan lebih lanjut, sehingga akan meningkatkan pertambahan bobot segar eksplan *C. succirubra* yang bertunas dan berakar. Menurut Abidin (2005), fungsi dari hormon auksin adalah membantu proses pertumbuhan akar maupun batang, mempercepat perkecambahan serta membantu proses pembelahan sel. Dalam proses pembelahan sel maka ukuran eksplan, bentuk dan volume eksplan akan bertambah besar sehingga mempengaruhi berat eksplan.



Salah satu faktor yang mempengaruhi bobot segar eksplan yang bertunas dan berakar disebabkan karena adanya kandungan air yang tinggi. Kandungan air yang tinggi disebabkan sedikitnya transpirasi yang terjadi pada daun tanaman kina dalam kondisi *in vitro*. Menurut Dwidjoseputro (1990) mengatakan bahwa 80% atau lebih dari bobot segar tanaman yang hidup terdiri dari air. Prawiranata *et al.*, (1981) dalam Pratiwi (2014) mengatakan bahwa bobot segar mencerminkan komposisi karbohidrat dan unsur hara dari jaringan tanaman dengan mengikutsertakan kandungan airnya.

## 10. Tekstur Kalus

Tekstur kalus merupakan salah satu parameter yang digunakan untuk menentukan kualitas suatu kalus. Secara umum, tekstur kalus yang muncul pada eksplan dikelompokkan menjadi 2 kelompok, yaitu kalus remah (*friable*) dan kalus kompak (*nonfriable*). Kalus remah mempunyai tekstur yang renggang sehingga jika diambil dengan pinset, kalus mudah pecah dan mudah untuk dipisahkan. Sedangkan kalus kompak mempunyai tekstur yang padat dan sulit untuk dipisahkan. Secara visual, kalus kompak yang terbentuk pada eksplan *C. succirubra* ikatan antar selnya tampak padat, tidak berlendir, dan sulit dipisahkan dengan pinset. Hasil pengamatan tekstur kalus dapat dilihat pada Tabel 12.

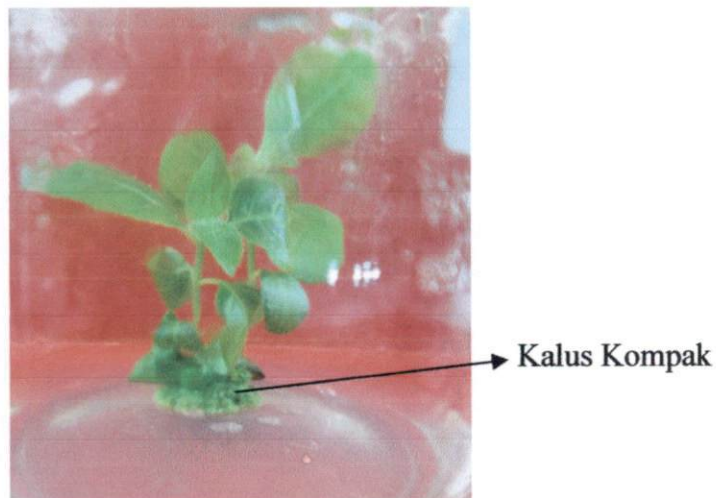
Tabel 12. Tekstur kalus dengan pemberian beberapa konsentrasi NAA dan Kinetin pada umur 12 MST.

Konsentrasi NAA (mg/l)	Konsentrasi Kinetin (mg/l)			
	2	4	6	8
0	-	-	-	Kompak
0,5	Kompak	Kompak	Kompak	Kompak
1,0	Kompak	Kompak	Kompak	Kompak
1,5	Kompak	Kompak	Kompak	Kompak

Keterangan : -) = Tidak muncul kalus

Pada Tabel 12 memperlihatkan bahwa hampir pada semua media perlakuan memunculkan kalus dan semua kalus yang terbentuk pada eksplan *C. succirubra* bertekstur kompak, kecuali pada pemberian NAA konsentrasi 0 mg/l dengan Kinetin 2 mg/l, 4 mg/l, dan 6 mg/l. Tumbuhnya kalus pada pemberian Kinetin konsentrasi 8 mg/l disebabkan adanya pengaruh antara hormon endogen dan eksogen. Hormon endogen tersebut mampu memacu sel untuk berkembang

dan memperbanyak diri tetapi memerlukan waktu yang cenderung lama karena jumlah hormon yang tidak tersedia secara pasti. Sedangkan hormon eksogen dapat memodifikasi hormon endogen baik secara langsung maupun tidak langsung dan menghasilkan reaksi pada sel yang dibutuhkan untuk pembesaran, pembelahan, dan regenerasi sel. Hal ini membuktikan bahwa terbentuknya kalus sangat dipengaruhi oleh peran jenis zat pengatur tumbuh. Menurut Wattimena *et al.*, (1992), Morfogenesis eksplan tergantung kepada keseimbangan auksin dan sitokinin di dalam media dan interaksi antara zat pengatur tumbuh endogen di dalam tanaman dan zat pengatur tumbuh eksogen yang diserap dari media tumbuh.



Gambar 6. Kalus yang terbentuk pada *shootlet C. succirubra* umur 12 MST



## BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan terhadap pertumbuhan tanaman kina (*Cinchona succirubra* Pavon) dengan pemberian NAA dan Kinetin secara *in vitro* dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Terdapat interaksi terbaik antara NAA dan Kinetin terhadap presentase eksplan berkalus 100% yaitu konsentrasi NAA 0,5 mg/l dengan Kinetin 4 mg/l, konsentrasi NAA 1,0 mg/l dengan Kinetin 2 mg/l, 4 mg/l, 6 mg/l, dan 8 mg/l, dan konsentrasi NAA 1,5 mg/l dengan Kinetin 2 mg/l.
2. Pemberian NAA dengan konsentrasi 1,0 mg/l memberikan pertumbuhan terbaik terhadap jumlah akar 9,92 buah dan panjang akar terpanjang 2,82 cm. Pemberian NAA dengan konsentrasi 1,5 mg/l memberikan pertumbuhan terbaik terhadap presentase eksplan bertunas dan berakar 58,34% dan bobot segar eksplan bertunas dan berakar 0,88 g.
3. Pemberian Kinetin dengan konsentrasi 4 mg/l memberikan pertumbuhan terbaik terhadap jumlah akar 7,58 buah dan panjang akar terpanjang 2,60 cm.

### B. Saran

Berdasarkan kondisi penelitian dan kesimpulan tersebut memperlihatkan bahwa pemberian NAA dan Kinetin pada media memberikan respon pertumbuhan tanaman kina (*Cinchona succirubra* Pavon). Dari hasil penelitian yang telah dilakukan maka untuk mendapatkan hasil terbaik penulis menyarankan agar penelitian selanjutnya menggunakan NAA dan Kinetin dengan konsentrasi yang lebih rendah atau menggunakan zat pengatur tumbuh lain seperti IBA untuk respon pertumbuhan tanaman kina succi secara *in vitro*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z. 2005. Dasar-dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh. Angkasa. Bandung.
- Ali, G., F. Hadi., Z. Ali., M. Tariq., dan M.A. Khan. 2007. Callus Induction and *in vitro* Complete Plant Regeneration of Different Cultivars of Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) on Media of Different Hormonal Concentration. *Biotechnology*. 6 (4): 561-566.
- Alitalia, Y. 2008. Pengaruh Pemberian BAP dan NAA Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Tunas Mikro Kantong Semar (*Nepenthes mirabilis*) Secara *In Vitro*. [Skripsi]. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 61 hal.
- Anggarwulan, E., B. Rahayu., dan Solichatun. 2002. Pengaruh Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D) terhadap Pembentukan dan Pertumbuhan Kalus serta Kandungan Flavonoid Kultur Kalus *Acalypha indica* L. *Jurnal Biofarmasi*. 1 (1): 1-6.
- Anwar, N. 2007. Pengaruh Media Multiplikasi Terhadap Pembentukan Akar pada Tunas *In Vitro* Nenas (*Ananas comocus* (L.) Merr.) cv. *Smooth Cayenne* di Media Pengakaran. [Skripsi]. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 37 hal.
- Arifin, S., W. Astika., K. Bambang., Z.S. Wibowo., Sukasmono, W.S. Katawijaya., J. Santoso., W. Widayat., B. Sriyadi., Y. Rachmiati., A.M. Sabur., K. Suhargyanto., S. Adimulyo., Topani., dan B. Samudi. 1995. Petunjuk Kultur Teknis Tanaman Kina. BPTK Gambung. Bandung. 143 hal.
- Armini, N.M., G.A. Wattimena., dan L.W. Gunawan. 1991. Perbanyakan tanaman. Hal 17-149. *Dalam: Tim Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman (Eds.). Bioteknologi Tanaman 1. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Insitut Pertanian Bogor. Bogor.*
- Badriah, D.S., N.T. Mathius., dan T. Sutater. 1998. Tanggap Dua Kultivar Gladiol Terhadap Zat Pengatur Tumbuh Pada Perbanyakan *In Vitro*. *Jurnal Hortikultura* 8 (2): 1048-1059.
- Chaniago, I. 2007. Penuntun Praktikum Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan. Fakultas Pertanian. Universitas Andalas. Padang. 38 hal.
- Dwidjoseputro. 1990. Pengantar Fisiologi Tumbuhan. Gramedia. Jakarta. 177 Hal.
- Ettling, C. 2006. Budidaya Tanaman Kina. Pusat Penelitian Teh dan Kina Gambung. Bandung. 31 hal.



- Gaba, V.B. 2005. Plant Growth Regulators in Plant Tissue Culture and Development. *In* : Trigiano and Gray. Plant Development and Bioechnology. CRC Press. London.
- George, E.F. dan P.D. Sherrington. 1984. Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook and Directory of Commercial Laboratories. Exegetics Ltd., England. 596 p.
- Groothoff, A. 2006. Eksploitasi Rasional Perkebunan Kina. Pusat Penelitian Teh dan Kina Gambung. Bandung. 91 hal.
- Gunawan, L.W. 1988. Teknik Kultur Jaringan. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. Pusat Antar Universitas (PAU) Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 304 hal.
- Hambali, E., A. Suryani., Dadang, Hariyadi, H. Hanafie., I.K. Reksowardojo., M. Rivai., M. Ihsanur., P. Suryadarma., S. Tjitrosemito., T.H. Soerawidjaja., T. Prawitasari., T. Prakoso., dan W. Purnama. 2006. Jarak Pagar Tanaman Penghasil Biodiesel. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Hendaryono, D.P.S. dan A. Wijayani. 1994. Teknik Kultur Jaringan. Kanisius. Yogyakarta. 64 hal.
- <http://www.warintek.ristek.go.id/pertanian/kina.pdf> [19 Januari 2015]
- Irawan, F., Y.P. Sari., dan D. Susanto. 2009. Respon Pertumbuhan Tunas Meranti Merah (*Shorea seminis* (de Vriese) Slooten) dengan Pemberian Zat Pengatur Tumbuh BA (Benzil Adenin) Secara *In Vitro*. *Jurnal Bioprospek*. 6 (2): 62-73.
- Lakitan, B. 1996. Fisiologi Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 218 hal.
- Lestari, E.G. 2011. Peranan Zat Pengatur Tumbuh Dalam Perbanyak Tanaman Melalui Kultur Jaringan. *Jurnal AgroBiogen*. 7 (1): 63-68.
- Mahadi, I., S. Wulandari., dan D. Trisnawati. 2013. Pengaruh Pemberian NAA dan Kinetin Terhadap Pertumbuhan Eksplan Buah Naga (*Hylocereus costaricensis*) Melalui Teknik Kultur Jaringan Secara *In Vitro*. *Jurnal Biogenesis*. 9 (2): 14-20.
- Matondang, I., R. Kurniangingsih., dan Marfuah. 2009. Pengaruh Pemberian BAP (6-Benzyl Amino Purine) Pada Media Multiplikasi Tunas Anthurium hookerii Kunth. Enum. Secara *In Vitro*. *Jurnal Vis Vitalis*. 2 (2): 23-30.
- Mattjik, N.A. 2005. Peranan Kultur Jaringan Dalam Perbaikan Tanaman. Orasi Ilmiah Guru Besar IPB. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Perum Perhutani. 2006. PHBM Kina. Perum Perhutani Unit III Jawa Barat dan Banten.
- Pierik, R.L.M. 1987. *In Vitro Culture of Higher Plant*. Martinus Nijhoff Publisher. Dardrecht. 344 p.
- Pratiwi, E.E. 2014. Pengaruh Pemberian BAP dan Kinetin Dengan Beberapa Konsentrasi Kinetin Terhadap Multiplikasi Tunas Tanaman Kina (*Cinchona ledgeriana* Moens) Secara *In Vitro*. [Skripsi]. Fakultas Pertanian. Universitas Andalas. Padang. 51 hal.
- Prihandana, R. dan P. Hendroko. 2006. Petunjuk Budidaya Jarak Pagar. Agromedia Pustaka. Jakarta. 84 hal.
- Raharjda, P.C. 2007. Teknik Perbanyakan Tanaman Secara Modern. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Rahmawati, M.S. 2008. Pengaruh BAP dan GA<sub>3</sub> Terhadap Perkecambahan *Heliconia caribaea* Lam. Secara *In Vitro*. [Skripsi]. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 43 hal.
- Rosyadi, I. 2013. Indonesia Raja Kina. <http://disbun.jabarprov.go.id> [Diakses pada tanggal 31 Maret 2014].
- Ruswaningsih, F. 2007. Pengaruh Konsentrasi Amonium Nitrat dan BAP Terhadap Pertumbuhan Eksplan Pucuk *Artemisia annua* L. Pada Kultur *In Vitro*. [Skripsi]. Fakultas Pertanian. UNS. Surakarta.
- Salisbury F.B. dan C.W. Ross. 1995. Fisiologi Tumbuhan. *Terjemahan* Lukman D. R. dan Sumaryono. Penerbit Institut Teknologi Bandung. Bandung. 343 hal.
- Sandra, E. 2003. Kultur Jaringan Anggrek Skala Rumah Tangga. AgroMedia Pustaka. Jakarta. 80 hal.
- Santoso, J. dan S. Wibowo. 2000. Usaha Memperpendek Umur Bibit Semai Sambung Kina di Pembibitan. Pusat Penelitian Teh dan Kina Gambung. Bandung.
- Santoso, J., N. Toruan-Mathius., U. Sastraprawira., G. Suryatmana., dan D. Saodah. 2004. Perbanyakan Tanaman Kina *Cinchona ledgeriana* Meons dan *Cinchona succirubra* Pavon melalui Penggandaan Tunas Aksilar. *Menara Perkebunan*. 72 (1): 11-27.
- Santoso, U. dan F. Nursandi. 2004. Kultur Jaringan Tanaman. Universitas Muhammadiyah Malang Press. Malang.



- Sari, Y.P. 2009. Pengaruh NAA dan BAP Terhadap Inisiasi Tunas Pada Eksplan Nodus Tanaman Zodia (*Evodia suaveolens* Scheff) Secara *In Vitro*. *Jurnal Bioprospek*. 6 (1): 1-11.
- Sukasmono, M., Suhawijaya, dan A.L. Supartoyono. 1980. Setek Sambungan Kina Hasil Pengujian di Lapangan. *Warta BPTK*. 6 (1/2): 105-109.
- Suliansyah, I. 2013. Kultur Jaringan Tanaman. Leutika Nouvalitera. Yogyakarta. 211 hal.
- Sumardi. 1996. Penggunaan Arang Aktif Pada Beberapa Kombinasi NAA dan BAP dalam Kultur Durian (*Durio zibethinus* Muur) secara *In vitro*. [Tesis]. Program Pascasarjana. Universitas Andalas. Padang. 76 hal.
- Sumaryono dan I. Riyadi. 2005. Pertumbuhan Biak Kalus dan Suspensi Sel Tanaman Kina (*Cinchona ledgeriana* Moens). *Menara Perkebunan*. 73 (1): 1-11.
- Suryowinoto, M. 1996. Pemuliaan Tanaman Secara *In Vitro*. Kanisius. Yogyakarta. 245 hal.
- Tahardi, J.S. dan I. Riyadi. 2005. Pengaruh NAA dan IBA Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Tunas Kina (*Cinchona succirubra*). *Jurnal Bioteknologi Pertanian*. 10 (2): 45-50.
- Toruan-Mathius, N., Lukman, dan Agus-Purwito. 2006. Teknik Sambung Mikro *In Vitro* Kina *Cinchona succirubra* dengan *Cinchona ledgeriana*. *Menara Perkebunan*. 74 (2): 62-74.
- Warnita. 2012. Penuntun Praktikum Kultur Jaringan Tumbuhan. Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian. Universitas Andalas. Padang. 56 hal.
- Wattimena, G.A. 1988. Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. Pusat Antar Universitas Bioteknologi (PAU). Institut Pertanian Bogor. Bogor. 145 hal.
- \_\_\_\_\_, L.W. Gunawan., N.A. Mattjik., E. Syamsudin., N.M.A. Wiendi., dan A. Ernawati. 1992. Bioteknologi Tanaman. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 309 hal.
- Wetherell, D.F. 1982. Pengantar Propagasi Tanaman Secara *In Vitro*. Koensoemardiyah S. SU, penerjemah. Semarang: IKIP Semarang Press. Semarang. Terjemahan dari: *Introduction to in Vitro Propagation*. 110 p.
- Wetter, L.R. dan F. Constabel. 1991. Metode Kultur Jaringan Tanaman. Edisi Ke-2. Widiyanto MB, penerjemah. Bandung: Institut Teknologi Bandung. Terjemahan dari: *Plant Tissue Culture Methods*.

- Widayat, W. 2000. Peluang Pasar dan Perkembangan Industri Kina Indonesia. In M. Martono *et al.* (eds.) Pros. Seminar Sehari Pengembangan Perkebunan Indonesia, Buku II: Pengembangan Kina Nasional. Bandung, 3 Agustus 2000 p. 4-10.
- Yelnitis. 2001. Pembiakan Vegetatif *Shorea leprosula* Secara Kultur Jaringan. Laporan Tahunan. 25 hal.
- Yusnita. 2004. Kultur Jaringan. Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien. Cetakan Ketiga. Agro Media Pustaka. Jakarta. 105 hal.
- Yuswindasari, C.O. 2010. Kajian Penggunaan Berbagai Konsentrasi BA dan NAA Terhadap Pembentukan Tunas Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Pada Kultur *In Vitro*. [Skripsi]. Fakultas Pertanian. Universitas Sebelas Maret. Surakarta. 35 hal.
- Zulkarnain, H. 2011. Kultur Jaringan Tanaman. Solusi Perbanyak Tanaman Budi Daya. Bumi Aksara. Jakarta. 250 hal.



**Lampiran 1. Jadwal Kegiatan Penelitian dari Bulan Juni 2014 sampai dengan Oktober 2014**

No.	Kegiatan	Minggu Ke -																	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1.	Persiapan alat dan bahan																		
2.	Sterilisasi alat dan bahan																		
3.	Pembuatan media																		
4.	Pemberian perlakuan																		
5.	Penanaman eksplan																		
6.	Pemeliharaan																		
7.	Pengamatan																		

Lampiran 2. Denah Penempatan Botol Kultur di Laboratorium Berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial

$A_1B_3^3$ ***	$A_4B_3^3$ ***	$A_3B_3^1$ ***	$A_1B_2^2$ ***	$A_4B_1^2$ ***	$A_3B_1^1$ ***
$A_4B_2^2$ ***	$A_3B_1^2$ ***	$A_2B_3^2$ ***	$A_1B_1^3$ ***	$A_2B_3^3$ ***	$A_1B_4^3$ ***
$A_3B_4^1$ ***	$A_1B_3^1$ ***	$A_4B_4^3$ ***	$A_3B_1^3$ ***	$A_3B_3^2$ ***	$A_4B_3^2$ ***
$A_2B_1^1$ ***	$A_3B_4^2$ ***	$A_1B_1^2$ ***	$A_4B_2^3$ ***	$A_1B_3^2$ ***	$A_3B_2^3$ ***
$A_2B_2^3$ ***	$A_3B_2^1$ ***	$A_2B_1^2$ ***	$A_2B_4^2$ ***	$A_4B_1^3$ ***	$A_4B_4^2$ ***
$A_3B_3^3$ ***	$A_1B_2^1$ ***	$A_4B_1^1$ ***	$A_4B_3^1$ ***	$A_2B_4^3$ ***	$A_1B_2^3$ ***
$A_1B_4^1$ ***	$A_2B_4^1$ ***	$A_2B_3^1$ ***	$A_2B_1^3$ ***	$A_2B_2^1$ ***	$A_4B_2^1$ ***
$A_4B_4^1$ ***	$A_2B_2^2$ ***	$A_1B_4^2$ ***	$A_3B_2^2$ ***	$A_3B_4^3$ ***	$A_1B_1^1$ ***

Keterangan:

- AiBj

= Perlakuan
- Faktor A

:  $A_1$  = NAA 0 mg/l  
 $A_2$  = NAA 0,5 mg/l  
 $A_3$  = NAA 1,0 mg/l  
 $A_4$  = NAA 1,5 mg/l
- Faktor B

:  $B_1$  = Kinetin 2 mg/l  
 $B_2$  = Kinetin 4 mg/l  
 $B_3$  = Kinetin 6 mg/l  
 $B_4$  = Kinetin 8 mg/l
- 1,2,3

= Ulangan
- \*\*\*

= Botol Kultur



**Lampiran 3. Komposisi Nutrisi Media Dasar Murashige dan Skoog (MS)**

Bahan Kimia	Larutan Baku (mg/l)	Larutan Stok (g/l)	Kepekatan (kali)	Kebutuhan media/l	Kode Stok
<b>Unsur makro</b>					
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	16.50	10	100	A
KNO <sub>3</sub>	1900	19.00	10	100	B
CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	440	4.40	10	100	C
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	370	3.70	10	100	D
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	1.70	10	100	D
<b>Unsur mikro</b>					
MnSO <sub>4</sub> 4H <sub>2</sub> O	22.30	223*	100	10	E
ZnSO <sub>4</sub> 4H <sub>2</sub> O	8.60	86*	100	10	E
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6.20	62*	100	10	E
KI	0.83	8.30*	100	10	E
CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	0.025	0.25*	100	10	F
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	0.25	2.50*	100	10	F
CoCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	0.025	0.25*	100	10	F
FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	27.80	5.57	200	5	G
Na <sub>2</sub> EDTA 2H <sub>2</sub> O	37.30	7.45	200	5	G
<b>Vitamin</b>					
Myo-inositol	100	1000*	100	10	H
Thiamin	0.10	10*	1000	1	I
Nicotinic Acid	0.50	50*	1000	1	J
Pyridoksin HCl	0.50	50*	1000	1	K
Glysin	2.00	2.00	1000	1	L

Sukrosa 30 g/l

\*) mg/100 ml larutan stok, pH 5.8

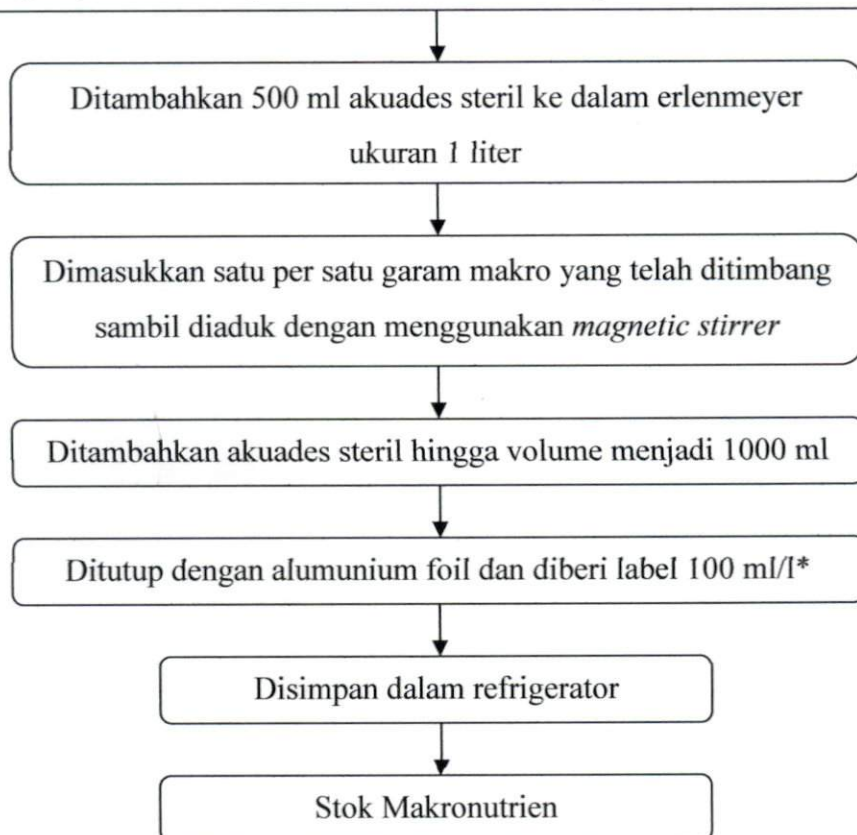
Sumber: George dan Sherrington (1984)

## Lampiran 4. Pembuatan Larutan Stok pada Media Dasar MS

### 1. Stok Makronutrien

Ditimbang masing-masing garam makro (mg/l)

- $\text{NH}_4\text{NO}_3$  : 1650 dipekatkan 10 kali = 16500 mg/l
- $\text{KNO}_3$  : 1900 dipekatkan 10 kali = 19000 mg/l
- $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  : 440 dipekatkan 10 kali = 4400 mg/l
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  : 370 dipekatkan 10 kali = 3700 mg/l
- $\text{KH}_2\text{PO}_4$  : 170 dipekatkan 10 kali = 1700 mg/l



#### Catatan:

\*) 100 ml/l larutan stok makronutrien yang dipipet dalam 1 liter media MS diperoleh dengan menggunakan rumus:

$$= \frac{\text{Volume stok yang dibuat}}{\text{Kepekatan (10 kali)}}$$

$$= \frac{1000 \text{ ml}}{10}$$

$$= 100 \text{ ml/l}$$



## 2. Stok Mikronutrien

Ditimbang masing-masing garam mikro (mg/l)

- $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  : 22.30 dipekatkan 100 kali = 2230 mg/l
- $\text{ZnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  : 8.60 dipekatkan 100 kali = 860 mg/l
- $\text{H}_3\text{BO}_3$  : 6.20 dipekatkan 100 kali = 620 mg/l
- $\text{Kl}$  : 0.83 dipekatkan 100 kali = 83 mg/l
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  : 0.025 dipekatkan 100 kali = 2.5 mg/l
- $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  : 0.25 dipekatkan 100 kali = 25 mg/l

Ditambahkan 500 ml akuades steril ke dalam erlenmeyer  
ukuran 1 liter

Dimasukkan satu per satu garam makro yang telah ditimbang  
sambil diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer*

Ditambahkan akuades steril hingga volume menjadi 1000 ml

Ditutup dengan alumunium foil dan diberi label 10 ml/l\*

Disimpan dalam refrigerator

Stok Mikronutrien

### Catatan:

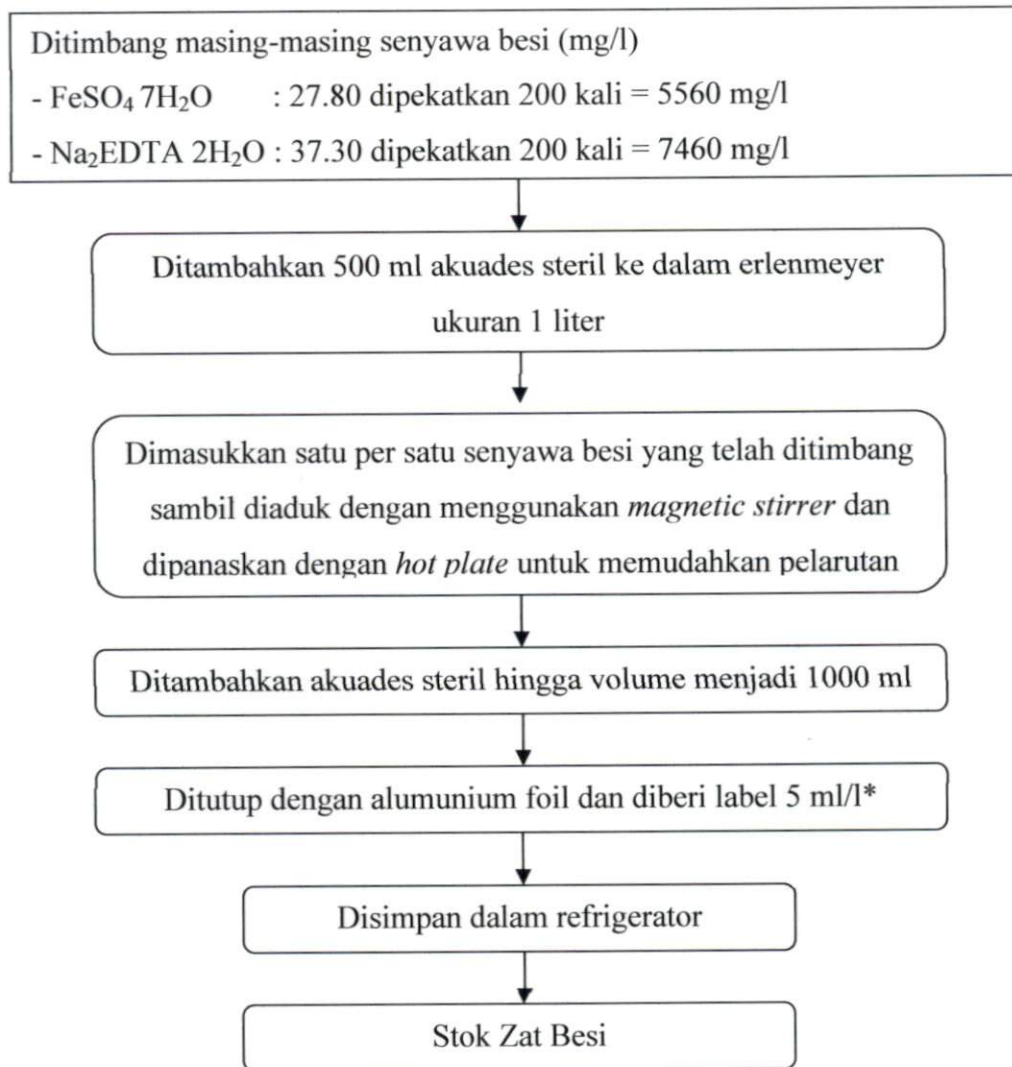
\*) 10 ml/l larutan stok mikronutrien yang dipipet dalam 1 liter media MS diperoleh dengan menggunakan rumus:

$$= \frac{\text{Volume stok yang dibuat}}{\text{Kepekatan (100 kali)}}$$

$$= \frac{1000 \text{ ml}}{100}$$

$$= 10 \text{ ml/l}$$

### 3. Stok Zat Besi



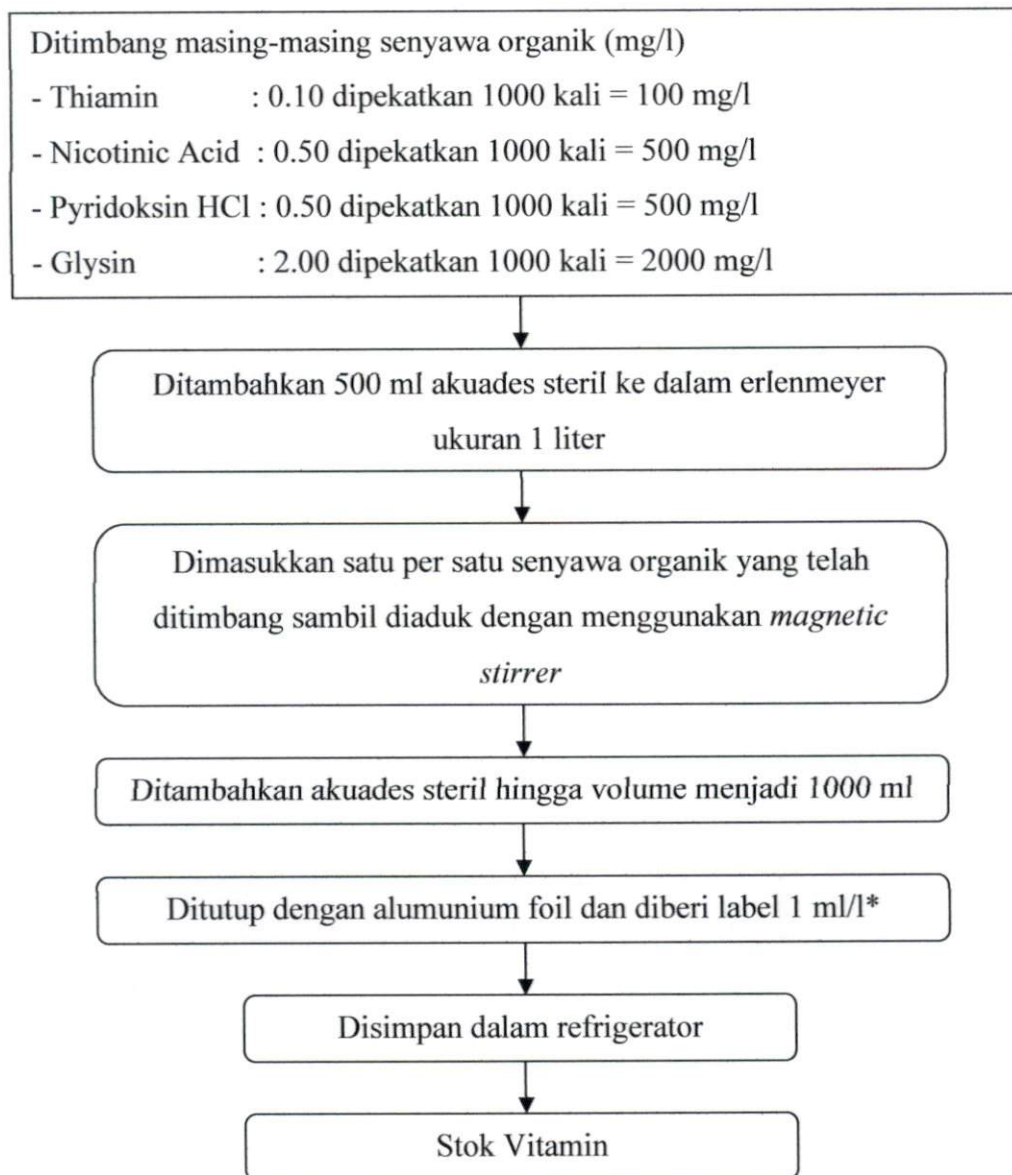
#### Catatan:

\*) 5 ml/l larutan stok zat besi yang dipipet dalam 1 liter media MS diperoleh dengan menggunakan rumus:

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\text{Volume stok yang dibuat}}{\text{Kepekatan (200 kali)}} \\
 &= \frac{1000 \text{ ml}}{200} \\
 &= 5 \text{ ml/l}
 \end{aligned}$$



#### 4. Stok Vitamin



#### Catatan:

\*) 1000 ml/l larutan stok vitamin yang dipipet dalam 1 liter media MS diperoleh dengan menggunakan rumus:

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\text{Volume stok yang dibuat}}{\text{Kepekatan (1000 kali)}} \\
 &= \frac{1000 \text{ ml}}{1000} \\
 &= 1 \text{ ml/l}
 \end{aligned}$$

### Lampiran 5. Perhitungan Kebutuhan Zat Pengatur Tumbuh NAA dan Kinetin

Ketentuan dalam membuat konsentrasi stok sesuai dengan kebutuhan, yaitu:

- Jika ZPT konsentrasinya  $\geq 0,1$  mg/l stok dibuat 1000 mg/l
- Jika ZPT konsentrasinya  $\leq 0,1$  mg/l stok dibuat 100 mg/l
- Jika ZPT konsentrasinya  $\geq 10$  mg/l stok dibuat 10000 mg/l

A. Konsentrasi ZPT NAA dalam penelitian yaitu 0, 0,5, 1,0, 1,5 mg/l jadi larutan stok yang dibuat = 1000 mg/l.

Untuk volume larutan stok NAA 1000 mg/l yang akan dibuat adalah 50 ml, dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\frac{N1}{V1} = \frac{N2}{V2}$$

$$\frac{1000 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} = \frac{N2}{50 \text{ ml}} \quad N2 = \frac{50000}{1000}$$

$$N2 = 50 \text{ mg}$$

Jadi, untuk membuat stok NAA 1000 mg/l adalah dengan menimbang NAA sebanyak 50 mg dan dilarutkan ke dalam 50 ml akuades.

Jumlah NAA yang dipipet pada media perlakuan adalah:

- Volume yang dipipet dari stok NAA 1000 mg/l, jika konsentrasi yang diperlukan dalam 1 liter media adalah:

$$\frac{V1}{V2} \times N1 = \frac{V2}{V2} \times N2$$

$$\frac{1000 \text{ ml} \times 0 \text{ mg/l}}{V2} = \frac{0}{1000}$$

$$V2 = 0 \text{ ml (A}_1\text{)}$$

- Volume yang dipipet dari stok NAA 1000 mg/l, jika konsentrasi yang diperlukan dalam 1 liter media adalah:

$$\frac{V1}{V2} \times N1 = \frac{V2}{V2} \times N2$$

$$\frac{1000 \text{ ml} \times 0,5 \text{ mg/l}}{V2} = \frac{500}{1000}$$

$$V2 = 0,5 \text{ ml (A}_2\text{)}$$



- Volume yang dipipet dari stok NAA 1000 mg/l, jika konsentrasi yang diperlukan dalam 1 liter media adalah:

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ 1000 \text{ ml} \times 1,0 \text{ mg/l} &= V_2 \times 1000 \text{ mg/l} \\ \frac{V_1}{V_2} &= \frac{1000}{1000} \\ V_2 &= 1 \text{ ml (A}_3\text{)} \end{aligned}$$

- Volume yang dipipet dari stok NAA 1000 mg/l, jika konsentrasi yang diperlukan dalam 1 liter media adalah:

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ 1000 \text{ ml} \times 1,5 \text{ mg/l} &= V_2 \times 1000 \text{ mg/l} \\ \frac{V_1}{V_2} &= \frac{1500}{1000} \\ V_2 &= 1,5 \text{ ml (A}_4\text{)} \end{aligned}$$

B. Konsentrasi ZPT Kinetin dalam penelitian yaitu 2, 4, 6, 8 mg/l jadi larutan stok yang dibuat = 1000 mg/l.

Untuk volume larutan stok Kinetin 1000 mg/l yang akan dibuat adalah 50 ml, dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\begin{aligned} \frac{N_1}{V_1} &= \frac{N_2}{V_2} \\ \frac{1000 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} &= \frac{N_2}{50 \text{ ml}} = N_2 = \frac{50000}{1000} \\ N_2 &= 50 \text{ mg} \end{aligned}$$

Jadi, untuk membuat stok Kinetin 1000 mg/l adalah dengan menimbang Kinetin sebanyak 50 mg dan dilarutkan ke dalam 50 ml akuades.

Jumlah Kinetin yang dipipet pada media perlakuan adalah:

- Volume yang dipipet dari stok Kinetin 1000 mg/l, jika konsentrasi yang diperlukan dalam 1 liter media adalah:

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ 1000 \text{ ml} \times 2 \text{ mg/l} &= V_2 \times 1000 \text{ mg/l} \\ \frac{V_1}{V_2} &= \frac{2000}{1000} \\ V_2 &= 2 \text{ ml (B}_1\text{)} \end{aligned}$$

- Volume yang dipipet dari stok Kinetin 1000 mg/l, jika konsentrasi yang diperlukan dalam 1 liter media adalah:

$$\begin{aligned}
 V1 \times N1 &= V2 \times N2 \\
 1000 \text{ ml} \times 4 \text{ mg/l} &= V2 \times 1000 \text{ mg/l} \\
 V2 &= \frac{4000}{1000} \\
 V2 &= 4 \text{ ml (B}_2\text{)}
 \end{aligned}$$

- Volume yang dipipet dari stok Kinetin 1000 mg/l, jika konsentrasi yang diperlukan dalam 1 liter media adalah:

$$\begin{aligned}
 V1 \times N1 &= V2 \times N2 \\
 1000 \text{ ml} \times 6 \text{ mg/l} &= V2 \times 1000 \text{ mg/l} \\
 V2 &= \frac{6000}{1000} \\
 V2 &= 6 \text{ ml (B}_3\text{)}
 \end{aligned}$$

- Volume yang dipipet dari stok Kinetin 1000 mg/l, jika konsentrasi yang diperlukan dalam 1 liter media adalah:

$$\begin{aligned}
 V1 \times N1 &= V2 \times N2 \\
 1000 \text{ ml} \times 8 \text{ mg/l} &= V2 \times 1000 \text{ mg/l} \\
 V2 &= \frac{8000}{1000} \\
 V2 &= 8 \text{ ml (B}_4\text{)}
 \end{aligned}$$

Keterangan:

N1 = berat stok yang diketahui (mg)

N2 = berat stok yang akan dibuat (mg)

V1 = volume stok yang diketahui (ml)

V2 = volume stok yang akan dibuat (ml)



Lampiran 6. Tabel Sidik Ragam Beberapa Pengamatan

a. Kadar Klorofil (Klorofil A)

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	15	0,02698	0,00179	1,26 <sup>tn</sup>	1,99
A (NAA)	3	0,01308	0,00436	3,07*	2,90
B (Kinetin)	3	0,00165	0,00055	0,39 <sup>tn</sup>	2,90
AxB	9	0,01225	0,00136	0,96 <sup>tn</sup>	2,19
Sisa	32	0,04547	0,00142		
Total	47	0,07245			
KK = 3,73%					

Klorofil B

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	15	0,0107	0,0007	2,33*	1,99
A (NAA)	3	0,0052	0,0017	5,67*	2,90
B (Kinetin)	3	0,0006	0,0002	0,67 <sup>tn</sup>	2,90
AxB	9	0,0049	0,0005	1,67 <sup>tn</sup>	2,19
Sisa	32	0,0081	0,0003		
Total	47	0,0188			
KK = 1,65%					

Klorofil Total

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	15	0,0637	0,00423	1,505 <sup>tn</sup>	1,99
A (NAA)	3	0,0377	0,01123	3,996*	2,90
B (Kinetin)	3	0,0029	0,00097	0,345 <sup>tn</sup>	2,90
AxB	9	0,0271	0,00301	1,071 <sup>tn</sup>	2,19
Sisa	32	0,09	0,00281		
Total	47	0,1537			
KK = 4,86%					

Keterangan :  
\*) = Berbeda Nyata  
<sup>tn</sup>) = Berbeda Tidak Nyata

**b. Presentase Eksplan Bertunas dan Berakar (%)**

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	15	11748,10	783,21	3,51 <sup>*</sup>	1,99
A (NAA)	3	8034,56	2678,19	12,01 <sup>*</sup>	2,90
B (Kinetin)	3	1030,40	343,47	1,54 <sup>tn</sup>	2,90
AxB	9	2683,15	298,13	1,34 <sup>tn</sup>	2,19
Sisa	32	7138,50	223,08		
Total	47	18886,61			
KK = 38,52%					

**c. Presentase Eksplan Berkalus (%)**

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	15	20815,63	1387,71	23,83 <sup>*</sup>	1,99
A (NAA)	3	16913,48	5637,83	96,80 <sup>*</sup>	2,90
B (Kinetin)	3	272,67	90,89	1,56 <sup>tn</sup>	2,90
AxB	9	3629,48	403,28	6,92 <sup>*</sup>	2,19
Sisa	32	1863,77	58,24		
Total	47	22679,40			
KK = 13,07%					

**d. Jumlah Tunas per Eksplan (buah)**

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	15	1,20	0,08	1,33 <sup>tn</sup>	1,99
A (NAA)	3	0,57	0,19	3,17 <sup>*</sup>	2,90
B (Kinetin)	3	0,10	0,03	0,50 <sup>tn</sup>	2,90
AxB	9	0,53	0,06	1,0 <sup>tn</sup>	2,19
Sisa	32	1,78	0,06		
Total	47	2,98			
KK = 15,92%					

Keterangan :

<sup>\*</sup>) = Berbeda Nyata<sup>tn</sup>) = Berbeda Tidak Nyata



**e. Tinggi Tunas (cm)**

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	15	2,80	0,19	1,27 <sup>tn</sup>	1,99
A (NAA)	3	0,30	0,11	0,73 <sup>tn</sup>	2,90
B (Kinetin)	3	0,75	0,25	1,67 <sup>tn</sup>	2,90
AxB	9	1,73	0,19	1,27 <sup>tn</sup>	2,19
Sisa	32	4,64	0,15		
Total	47	7,44			
KK = 23,35%					

**f. Jumlah Daun per Eksplan (buah)**

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	15	20,49	1,37	1,30 <sup>tn</sup>	1,99
A (NAA)	3	10,5	3,50	3,33 <sup>*</sup>	2,90
B (Kinetin)	3	2,85	0,95	0,90 <sup>tn</sup>	2,90
AxB	9	7,14	0,79	0,75 <sup>tn</sup>	2,19
Sisa	32	33,64	1,05		
Total	47	54,13			
KK = 31,31%					

**g. Jumlah Akar per Eksplan (buah)**

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	15	40,10	2,67	11,13 <sup>*</sup>	1,99
A (NAA)	3	33,72	11,24	46,83 <sup>*</sup>	2,90
B (Kinetin)	3	4,28	1,43	5,99 <sup>*</sup>	2,90
AxB	9	2,10	0,23	0,96 <sup>tn</sup>	2,19
Sisa	32	7,59	0,24		
Total	47	47,65			
KK = 21,30%					

Keterangan :

<sup>\*</sup>) = Berbeda Nyata<sup>tn</sup>) = Berbeda Tidak Nyata

**h. Panjang Akar Terpanjang (cm)**

Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	15	8,55	0,57	6,33 <sup>*</sup>	1,99
A (NAA)	3	5,87	1,96	21,78 <sup>*</sup>	2,90
B (Kinetin)	3	1,34	0,45	5,0 <sup>*</sup>	2,90
AxB	9	1,34	0,15	1,67 <sup>tn</sup>	2,19
Sisa	32	3,03	0,09		
Total	47	11,58			
KK = 18,87%					

**i. Bobot Segar Eksplan Bertunas dan Berakar (gr)**

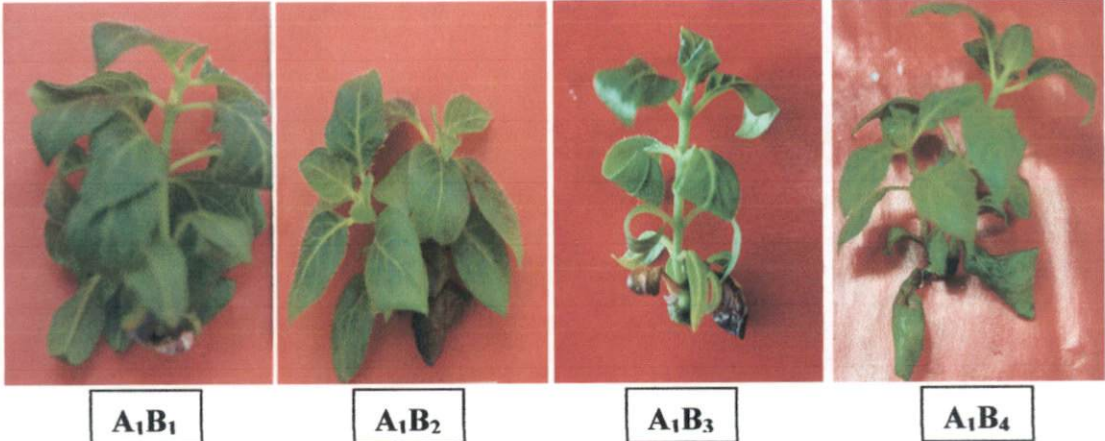
Sumber Keragaman	Db	JK	KT	F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	15	1,16	0,077	4,0 <sup>*</sup>	1,99
A (NAA)	3	1,00	0,333	16,50 <sup>*</sup>	2,90
B (Kinetin)	3	0,02	0,007	0,50 <sup>tn</sup>	2,90
AxB	9	0,14	0,016	1,0 <sup>tn</sup>	2,19
Sisa	32	0,74	0,023		
Total	47	1,90			
KK = 11,38%					

Keterangan :  
                  <sup>\*</sup>) = Berbeda Nyata  
                  <sup>tn</sup>) = Berbeda Tidak Nyata



## Lampiran 7. Dokumentasi Hasil Penelitian (eksplan kina pada pengamatan 12 MST dengan masing-masing perlakuan)

### 1. Pemberian NAA 0 mg/l dengan beberapa konsentrasi Kinetin



Keterangan :

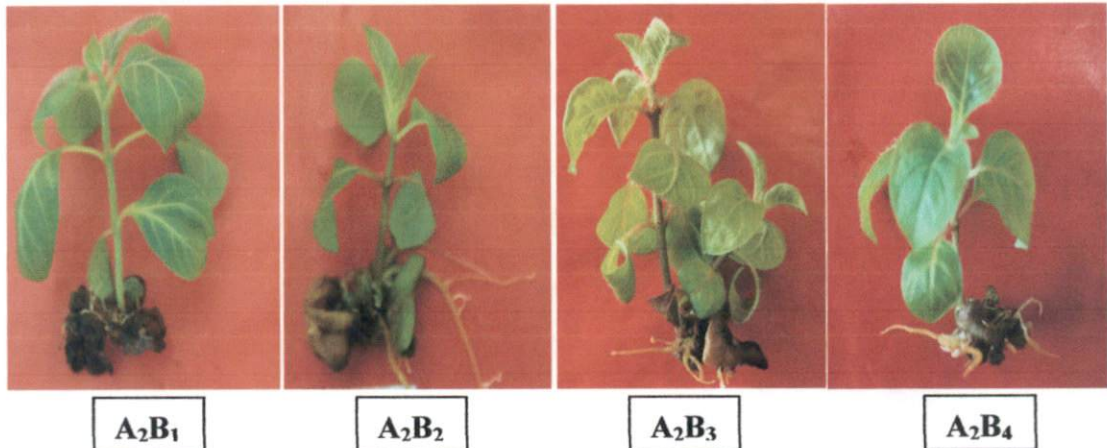
A<sub>1</sub>B<sub>1</sub> = NAA 0 mg/l + Kinetin 2 mg/l

A<sub>1</sub>B<sub>2</sub> = NAA 0 mg/l + Kinetin 4 mg/l

A<sub>1</sub>B<sub>3</sub> = NAA 0 mg/l + Kinetin 6 mg/l

A<sub>1</sub>B<sub>4</sub> = NAA 0 mg/l + Kinetin 8 mg/l

### 2. Pemberian NAA 0,5 mg/l dengan beberapa konsentrasi Kinetin



Keterangan :

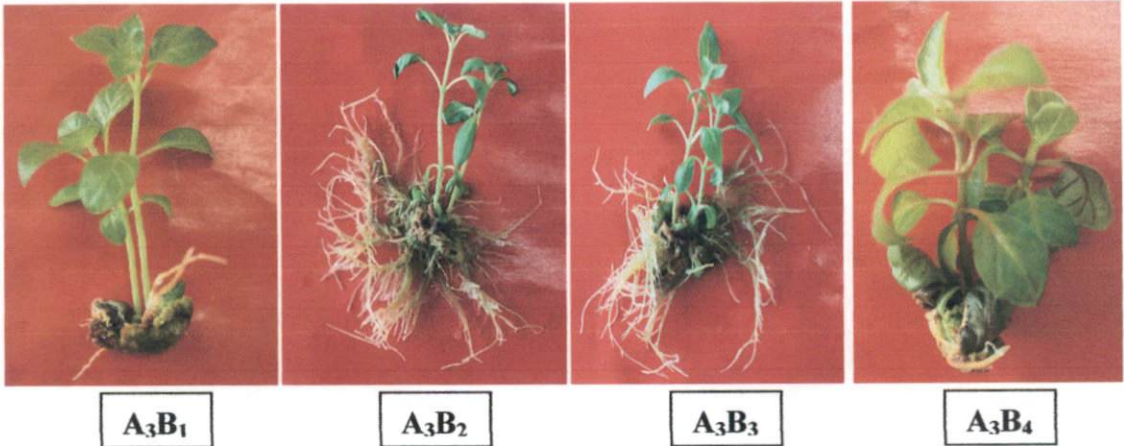
A<sub>2</sub>B<sub>1</sub> = NAA 0,5 mg/l + Kinetin 2 mg/l

A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> = NAA 0,5 mg/l + Kinetin 4 mg/l

A<sub>2</sub>B<sub>3</sub> = NAA 0,5 mg/l + Kinetin 6 mg/l

A<sub>2</sub>B<sub>4</sub> = NAA 0,5 mg/l + Kinetin 8 mg/l

### 3. Pemberian NAA 1,0 mg/l dengan beberapa konsentrasi Kinetin



Keterangan :

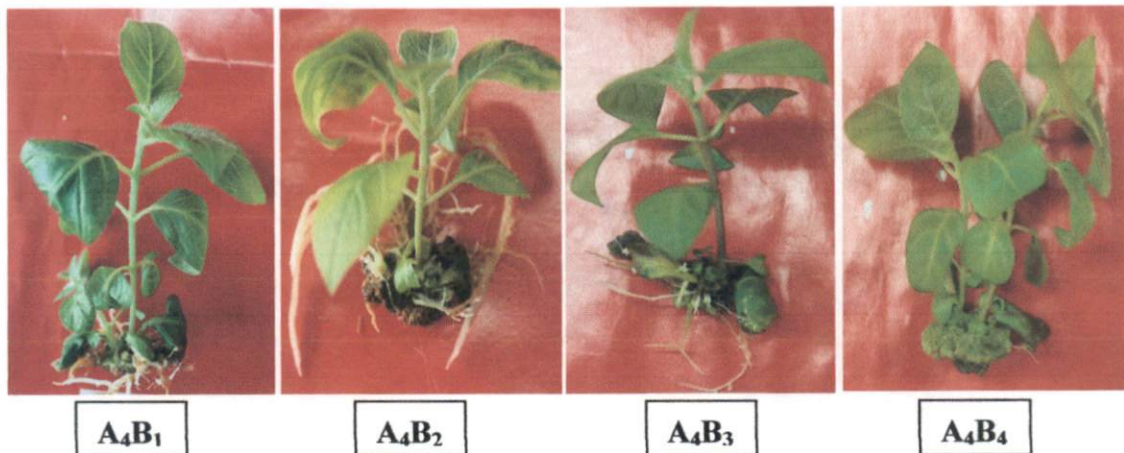
$A_3B_1 = \text{NAA } 1,0 \text{ mg/l} + \text{Kinetin } 2 \text{ mg/l}$

$A_3B_2 = \text{NAA } 1,0 \text{ mg/l} + \text{Kinetin } 4 \text{ mg/l}$

$A_3B_3 = \text{NAA } 1,0 \text{ mg/l} + \text{Kinetin } 6 \text{ mg/l}$

$A_3B_4 = \text{NAA } 1,0 \text{ mg/l} + \text{Kinetin } 8 \text{ mg/l}$

### 4. Pemberian NAA 1,5 mg/l dengan beberapa konsentrasi Kinetin



Keterangan :

$A_4B_1 = \text{NAA } 1,5 \text{ mg/l} + \text{Kinetin } 2 \text{ mg/l}$

$A_4B_2 = \text{NAA } 1,5 \text{ mg/l} + \text{Kinetin } 4 \text{ mg/l}$

$A_4B_3 = \text{NAA } 1,5 \text{ mg/l} + \text{Kinetin } 6 \text{ mg/l}$

$A_4B_4 = \text{NAA } 1,5 \text{ mg/l} + \text{Kinetin } 8 \text{ mg/l}$

## Lampiran 8. Karakteristik Tanaman Kina (*Cinchona succirubra* Pavon)

### Klasifikasi:

Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Rubiales
Suku	: Rubiaceae
Marga	: <i>Cinchona</i>
Spesies	: <i>Cinchona succirubra</i> Pavon
Nama umum	: Kina Succi

### Deskripsi:

Tanaman *C. succirubra* berbatang tinggi dan tegak, pertumbuhan kuat, tingginya dapat mencapai 25 m, tajuk membulat. Bercabang pada ketinggian 4-6 m, cabang berbentuk galah yang bersegi 4 pada ujungnya, mula-mula berbulu padat dan pendek kemudian agak gundul dan berwarna merah. Letak daun berhadapan dan berbentuk elips, lama kelamaan menjadi lancip atau bundar, permukaannya tidak rata, berwarna hijau sampai kuning kehijauan, daun gugur berwarna merah. Ukuran panjang daun 25-30 cm dan lebar 15-20 cm. Tulang daun terdiri dari 11-12 pasang, agak menjangat, berbentuk galah, daun penumpu sebagian berwarna merah, sangat lebar. Kelopak bunga berbentuk tabung, bundar, bentuk gasing, bergigi lebar bentuk segitiga, lancip. Bunga wangi, bentuk bulat telur sampai gelendong, dan berwarna merah jambu.

Sumber: Arifin *et al.*, (1995) dan

<http://www.warintek.ristek.go.id/pertanian/kina.pdf> [19 Januari 2015]